Aus dem Medizinischen Institut für Umwelthygiene
der Universität Düsseldorf
Direktor Prof. Dr. med. H. W. Schlipköter

Immunkomplexe beim malignen Melanom: Ihre immunologische und klinische Bedeutung

DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät Düsseldorf
vorgelegt von

EVA CERMAKOVA

1983

Aus dem Medizinischen Institut für Umwelthygiene
der Universität Düsseldorf
Direktor Prof. Dr. med. H. W. Schlipköter

Immunkomplexe beim malignen Melanom: Ihre immunologische und klinische Bedeutung

DISSERTATION
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Der Medizinischen Fakultät Düsseldorf
vorgelegt von

EVA CERMAKOVA

1983

"Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät Düsseldorf"

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

gez.: Prof. Dr. H. T. Brüster

Referent
gez.: Prof. Dr. H.-W. Schlipköter

Korreferent
gez.: Prof. Dr. G. Goerz

Inhaltsverzeichnis

		Seite
1.	Einleitung	4
2.	Problemstellung	5
3.	Antigene maligner Tumoren	6
3.1	Antigene des malignen Melanoms	7
3.2	Antigennachweis mit Hilfe monoklonaler Antikörper	10
3.3	Zusammenfassung	11
4.	Immunantwort	13
4.1	Die zelluläre Immunreaktion	18
4.1.1	Nachweismethoden der zellulären Immunantwort beim malignen Melanom	19
4.2	Die humorale Immunantwort	22
4.2.1	Nachweismethoden der humoralen Immunantwort beim malignen Melanom	22
5.	Faktoren, die die Immunantwort beeinflussen	25
5.1	Tumorspezifische Immuntoleranz	25
5.2	"Escape"-Phänomen	26
5.3	"Sponge"-Phänomen	26
5.4	Supressor-Zell-Aktivität	27
5.5	Tumorspezifisches Enhancement	27
5.6	Immunkomplexe	30
5.6.1	Die Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen	31
5.6.2	Interaktionen der IC mit dem Komplementsystem	33
5.6.2.1	Folgen der Komplementaktivierung	35

5.6.3	Interaktionen der Immunkomplexe mit verschiedenen Zellsystemen	37
5.6.4	Einfluß der Immunkomplexe auf die Immunantwort	37
5.6.4.1	Hemmung der humoralen Immunantwort	37
5.6.4.2	Steigerung der humoralen Immunantwort	37
5.6.4.3	Einfluß der Immunkomplexe auf die zelluläre Immunantwort	39
5.6.5	Methoden zum Nachweis von Immunkomplexen	39
6.	Material und Methoden	
6.1	Serumproben	40
6.2	Raji-Zell-Radioimmunassay	40
6.3	Statistik	43
7.	Ergebnisse	44
7.1	Patientenkollektiv	44
7.1.1	Geschlecht- und Altersverteilung	44
7.1.2	Tumorlokalisation	45
7.1.3	Tumor-Typ	45
7.1.4	Level	46
7.1.5	Tumordicke	46
7.1.6	Therapie	47
7.1.7	Metastasen	47
7.1.8	Beobachtungsdauer	48
7.1.9	Status am Ende der Beobachtung	48
7.1.10	Zusammenfassung	49
7.2	Ergebnisse des Raji-Zell-Radioimmunassay	49
7.2.1	Immunkomplexe der Melanompatienten	49
7.2.2	Immunkomplexe der Kontrollgruppe	50
7.2.3	Vergleich der Immunkomplexwerte der Melanompatienten und der Kontrollgruppe	51
7.2.4	Zusammenhang der Immunkomplexwerte mit patho-histologischen und klinischen Daten	55

7.2.4.1	Geschlechtsverteilung	55
7.2.4.2	Altersgruppen	59
7.2.4.3	Lokalisation	59
7.2.4.4	Histologische Tumortypen	61
7.2.4.5	Level nach Clark	63
7.2.4.6	Tumordicke	65
7.2.4.7	Therapie	67
7.2.4.8	Metastasenentwicklung	69
7.2.4.9	Zeitintervall zwischen Immunkomplex-messung und Operation	71
7.2.4.1o	Beobachtungsdauer	73
7.2.4.11	Status am Ende der Beobachtung	75
7.3	Einfluß der zirkulierenden Immun-komplexe auf die Überlebensrate	77
7.4	Prognosebestimmung der Melanompatienten anhand histologischer Daten (Level und Tumordicke) und der zirkulierenden Immunkomplexe im Serum	78
8.	Diskussion	79
9.	Zusammenfassung	83
	Abkürzungsverzeichnis	84
10.	Literaturnachweis	85

EINLEITUNG

Bereits im Jahre 19o7 interpretierte S. Handley bei seinen Studien über das maligne Melanom[+] das Auftreten einer peritumoralen Infiltration mit Lymphozyten und Plasmazellen als einen aktiven Abwehrmechanismus, der zur Tumorregression führen kann (Bodenham 1968).
Die Untersuchungen von Everson (1964), Morton (1968), Nairn (1974) und vielen Anderen unterstützen die These, daß das mM eine immunologische Tumorabwehr hervorruft.

In Übereinstimmung damit findet man Arbeiten (Hornstein 1973, Underwood 1974, Thompson 1973), die eine Korrelation zwischen dem Leukozyteninfiltrat und der Tumorregression aufzeigen.
Auch Spontanregressionen könnten eine immunologische Ursache haben, wie bereits von Sumner (1953) gezeigt wurde. Ebenso das gehäufte Vorkommen (Fraumeni 1975), Wiederauftreten (Woodruff 1964) oder exzessives Wachstum des mM bei Patienten, die sich einer immunsuppressiven Therapie unterzogen haben, oder die angeborene oder erworbene Immundefekte bzw. eine altersbedingte Immunschwäche (Götz 1976) aufweisen, könnten als ein Hinweis auf eine immunologische Tumorüberwachung gedeutet werden.

[+]malignes Melanom = mM

Es ist bis heute nicht gelungen, diesen, die Tumorentstehung und Ausbreitung überwachenden Immunapparat, in seiner Komplexität der verschiedenen Mechanismen zu erklären und ihn für eine frühzeitige Diagnostik und eine effektive Therapie nutzbar zu machen.

Ein wichtiger Störfaktor der Immunabwehr des Organismus ist die Bildung von Immunkomplexen, die als "blockierende Faktoren" während der Tumorzellzerstörung durch den Immunapparat wirken können (Hellström 1974; Baldwin 1975, 1976; Theofilopoulus 1979).

2. PROBLEMSTELLUNG

Das Ziel dieser Arbeit ist:

a. Den aktuellen Stand der Kenntnisse über die immunologischen Aspekte des mM der Haut zusammenzufassen.

b. Die Immunabwehr der Patienten anhand der Immunkomplexe im Serum zu untersuchen.

c. Eine Korrelation zwischen der Höhe der zirkulierenden Immunkomplexe und den klinischen und histologischen Parametern des malignen Melanoms zu suchen.

d. Die Bedeutung der Immunkomplexe für die Prognose des mM soll beurteilt werden.

3. ANTIGENE MALIGNER TUMOREN

Maligne transformierte Zellen unterscheiden sich in ihrem physiologischen Verhalten von normalen Gewebszellen. Diese Verhaltensänderung im Zellverband ist mit einer Reihe struktureller Merkmale der Zellmembran, des Zytoplasma und der Kernbestandteile verbunden.
Von immunologischem Interesse sind vor allem die an der Zellmembran lokalisierten Strukturen, da sie für die Immunantwort des tumortragenden Wirts verantwortlich sind.
Diese, im gesunden Gewebe nicht vorkommenden Strukturelemente werden vom Immunsystem als "fremd" erkannt und als Antigene wirksam.
(Sell 1977, Lengerova 1977).
Die durch das bösartige Wachstum charakterisierten Zellantigene können imponieren als:

a. Verlust, oder eine quantitative Änderung der im normalen Gewebe vorhandenen Antigene

b. Auftreten neuer Antigene

c. Wiederauftreten von normalerweise nur in früheren Differenzierungsstadien, also in fetalem, oder in embryonalem Gewebe vorkommender Antigene

d. Antigene, die normalerweise in Organen mit andersartigem histologischem Aufbau vorkommen.

Eine wichtige Voraussetzung für die Immunreaktion, und insbesondere die gegen die antigentragende Zelle

gerichtete Zytotoxizität, ist eine Mindestanzahl der Antigendeterminanten: Nur wenn sie in einer bestimmten Dichte dem Immunsystem präsentiert werden, findet eine effektive Immunabwehr statt. (Carrel 198o a)

Für die Erforschung der Tumorimmunität und der diagnostischen und therapeutischen Verwertbarkeit dieser Erkenntnisse stellt sich eine wichtige Frage: Ist ein mit dem malignen Wachstum aufgetretenes Antigen für einen Tumortyp spezifisch, oder handelt es sich um ein Antigen, welches bei verschiedenen Tumoren unterschiedlichen histologischen Aufbaus auftritt?
Diese beiden Antigenarten werden als:

1) tumorspezifische Antigene (nur bei dieser Tumorart anzutreffen) und als
2) tumorassoziierte, gemeinsame ("common", "shared") Antigene unterschieden.

Ein Tumor kann die Antigene der beiden Klassen gemeinsam besitzen. (Sell 1977)

3.1 Antigene des malignen Melanoms

Die heute am längsten bekannten Tumorantigene, deren Serumspiegel als Hilfsmittel zur Diagnostik bzw. Verlaufsbeobachtung maligner Tumoren dient, sind das CEA^{+} (Gold und Freedmann 1965, Koldovsky 1974) und das α-Fetoprotein. (Abelev 1968, Sell 1977). Beide gehören der Klasse der OFA^{++} an.

^{+}CEA = karzinomembryonales Antigen

^{++}OFA = onkofetale Antigene

Diese sind dadurch charakterisiert, daß sie Zellprodukte darstellen, die für Menschen immunogen sein können, und auf Fetal- und bestimmten Tumorzellen oder in Tumorpatientenseren auftreten. (Gupta 1979 b).

Auch beim mM sind durch verschiedene Nachweismethoden OFA gefunden worden (Irie 1976, Seibert 1977, Brüggen 1978, Gupta 1979 a, Avis 1973).

Gupta (1979 a) konnte in Seren von Melanompatienten ohne vorangegangene therapeutische Immunstimulation (z.B. BCG) mit Hilfe der Komplementfixationstechnik Antikörper gegen OFA und TAA[+] der M-14-Melanomzellkulturlinie nachweisen. Da weder Immunisierung noch BCG-Therapie vorausging - wobei BCG ähnliche Antigenkomponenten wie das mM besitzt (Minden 1976, Bucana 1974) - handelt es sich bei den nachgewiesenen Antikörpern nicht nur um solche, die gegen die TAA der M-14 Zellinie gerichtet sind, sondern sie zeigen ein gemeinsames, kreuzreagierendes, tumorassoziiertes Melanomantigen, welches sowohl auf den verschiedenen Patientenmelanomen als auch auf der M-14 Linie lokalisiert ist. Da die Reaktivität durch Absorption mit Fetalhirnzellen nicht geschwächt wurde, ist dieses von OFA verschieden.

Weitere Hinweise für die Existenz von melanomassoziierten Antigenen[++] liefern viele andere Wissenschaftler (Liao 1978, Macher 1975), denen es mit verschiedenen Methoden (mixed hemadsorption, Immunfluoreszenz, Immunadherenz) gelungen ist, Patienten-

[+]TAA = tumorassoziiertes Antigen

[++]MAA = melanomassoziiertes Antigen

serumreaktivität gegen Melanomzellen, nach Absorption mit Blutgruppen, HLA-Antigenen und Serum von Kälberfeten aufzuzeigen.

Auch andere Autoren haben auf ähnliche Weise mit Hilfe von Xenoantiseren von Affen (Metzgar 1973, Liao 1979), von Schimpansen (Leong 1976), von Kaninchen (Carrel 1973, McCabe 1979) die Existenz von gemeinsamen MAA auf Membranen von humanen Melanomzellen nachgewiesen.

Lewis beschrieb schon 1969 ein melanomassoziiertes kreuzreagierendes Antigen, welches aber im Zytoplasma der Melanomzelle lokalisiert war. Ein zweites melanomassoziiertes Melanomantigen war für jeden einzelnen Tumor spezifisch: dieses Antigen wird auch individualspezifisches Antigen genannt.
Nach Lewis gelang es einer Reihe Wissenschaftler individualspezifische Antigene beim mM nachzuweisen. (Bodurtha 1975, The 1975, Shiku 1976).

Nach der Auffassung von Sell (1977) ist diese die am häufigsten auftretende Antigenart auf menschlichen Tumoren.
In Tierversuchen (z.B. bei dem mM der Maus), als Modell für das humane Melanom, ist die Existenz eines MAA bestätigt worden. Es handelt sich um Glykoproteine, mit denen es möglich ist, syngene Mäuse so zu immunisieren, daß sie eine spätere Konfrontation mit einem sich sonst letal auswirkenden Wachstum eines mM überleben. (Bystryn 1978).

3.2 Antigennachweis mit Hilfe monoklonaler Antikörper

Zur Identifizierung von Tumorzellantigenen werden oft durch Immunisierung von Tieren hergestellte Antikörper herangezogen: Diese in vivo produzierten Antikörperseren enthalten verschiedenste Antikörperpopulationen unterschiedlicher Spezifität, mit denen es unmöglich ist, geringe Unterschiede der Antigenizität, oder kleine Mengen des Antigenmaterials nachzuweisen. Diese Polyspezifität der in vivo entstandenen Antiseren muß in vitro mit Hilfe der Absorption durch kreuzreagierendes Material reduziert werden.

Durch die Einführung einer neuen Methode von Köhler und Milstein (1975) zur Herstellung monoklonaler Antikörper können Antikörper gegen bestimmte vorher definierte antigene Determinanten gebildet werden. Diese neue Methode brachte einen wesentlichen Fortschritt in der Identifizierung von TAA.

Bei der Antigensuche im Falle des mM wurde diese Hybridommethode bereits von mehreren Autoren beschrieben. (Koprowski 1978, Steplewski 1979, Yeh 1979, Carrel 198o b, Brown 198o, Woodbury 198o, Natali 1981)

Yeh (1979) hat mit Hilfe von Antikörpern aus zwei Hybridomen, die er durch Fusion von Mausmilzzellen nach Immunisierung der Maus mit mM und Mausmyelomzellen erhalten hat (Methode nach Köhler und Milstein 1975), Antigene nachgewiesen, die identisch mit dem zur Immunisierung benutzten Tumorantigen waren.

Andere Melanomlinien zeigten keine oder eine weitaus schwächere Reaktion. Yeh hat daraus geschlossen, daß diese monoklonalen Antikörper nur antigene Determinanten der zur Immunisierung verwendeten Melanomlinie erkennen oder daß es sich beim mM um eine sehr polymorphe Gruppe von TAA handelt.

Shiku (1976) schließt aus seinen Versuchen zur Klassifizierung der Oberflächenantigene beim mM, daß es sich um verschiedene Antigensysteme auf der Oberfläche der Melanomzelle handelt. Eine Antigengruppe gehört der Kategorie der individualspezifischen, die zweite Kategorie der gemeinsamen ("common") Antigene an, die auf einer großen Zahl von Melanomzellen gefunden wird.

3.3 Zusammenfassung

Aus all diesen teilweise widersprüchlichen Ergebnissen kann geschlossen werden, daß es drei verschiedene Antigenklassen gibt, die bei verschiedenen Tumoren unterschiedlich ausgeprägt sind. (Houghton 1981)

Es sind folgende Antigenklassen:

1) individualspezifische Antigene, die sich ausschließlich auf der Oberfläche von autologen Melanomzellen, oder im autologen Patientenserum nachweisen lassen;

2) gemeinsame ("common", oder "shared") melanom-assoziierte Antigene, die sowohl auf autologen als auch auf allogenen Melanomzellen vorkommen; ebenso auf anderen Tumorzellen, nicht dagegen auf autologem, oder allogenem gesunden Gewebe;

3) kreuzreagierende Antigene, die nicht nur auf Melanomzellen nachzuweisen sind, sondern auch auf Fetal-, Embryonal-, Gehirn-, Neuralleistenzellen sowie anderen.

Die Ursachen der unterschiedlichen, teilweise sogar widersprüchlichen Ergebnisse der Charakterisierung des Melanomantigens sind wohl in den verschiedenen Nachweismethoden oder vielmehr in den verschiedenen Quellen des Zellmaterials, seien es frische Biopsien aus einem Primärtumor, Metastasen oder "short term" bzw. "long term" Melanomzellkulturen, zu suchen. (The 1975, Seibert 1977, Sorg 1978, De Vries 1975)

Hollinshead (1975) nimmt an, daß die Reaktivität der Zellen je nach Krankheitsstadium variiert. Er stellt die Hypothese auf, daß sich während der Tumorprogression schwächere immunogene Zellklone gegen Zellpopulationen mit hoher Immunogenität durchsetzen.

Auch hierbei ist natürlich als Ursache der sich widersprechenden Literaturhinweise die für die Reaktivität geforderte Mindestanzahl und bestimmte geometrische Anordnung der antigenen Determinanten auf der Zelloberfläche denkbar. (Carrel 1980 a)

4. IMMUNANTWORT

Obwohl bis heute die Tumorantigene des mM nicht näher charakterisiert werden konnten, stimmen viele Wissenschaftler darin überein, daß der Tumor-Wirt-Kontakt sowohl zu einer humoralen als auch zellulären Immunreaktion des Organismus führt. (Morton 1968, Prehn 1971, Nagel 1971 u.a.)

Die zelluläre Immunität steht bei der Tumorabwehr im Vordergrund (Macher 1976).
Bei der Zielzellzerstörung unterscheidet man drei Arten der zellulären Zytotoxizität in vitro:
a) Zytotoxizität durch sensibilisierte Lymphozyten,
b) antikörperabhängige Zytotoxizität,
c) Zytotoxizität aktivierter Makrophagen (Resch 1976)

Die Zielzellzerstörung wird vermittelt durch die T-Lymphozyten mit ihren verschiedenen Subpopulationen, B-Lymphozyten und durch Makrophagen:

1) Zytotoxische T-Lymphozyten (T_Z) besitzen spezifische Antigenrezeptoren, mit denen sie sich an die Zielzelle anlagern. Dieser Kontakt führt zur Schädigung der Zellmembran und anschließender Zytolyse.

2) Suppressor T-Zellen (T_S) wirken als Gegenregulatoren der Immunantwort und schützen die antigentragende Zelle vor dem zytotoxischen Effekt der T-Zellen und der humoralen Immunreaktion. Ihre Funktion ist meist spezifisch und richtet sich nur gegen das Antigen, durch das sie aktiviert wurden. (Miller 1979)

3) Die Helfer-T-Zellen (T) unterstützen die B-Zellen bei der Antikörperproduktion.

4) Die K-Lymphozyten, oder killer cells, die weder der T- noch der B-Zellreihe angehören, zerstören die Zielzellen, indem sie sich mit ihren F_c-Rezeptoren an das an antigene Determinanten gebundene Immunglobulin der Tumorzelle anlagern. Diese antikörperabhängige, zellvermittelte Zytotoxizität (ADCC$^+$) ist auch komplementabhängig.

5) Makrophagen und T-Lymphozyten aktivieren sich gegenseitig. Die von sensibilisierten T-Lymphozyten freigesetzten Mediatorsubstanzen sind für die Aktivierung und die Zytotoxizität der Makrophagen verantwortlich. Ihre Zytotoxizität ist im Gegensatz zu T-Lymphozyten unspezifisch und richtet sich nicht nur gegen Tumorzellen, sondern auch Infekterreger, Mykobakterien u.a. Makrophagen übermitteln das Antigen an die Helfer-T-Zellen und informieren die B- und T-Zellen.

6) Die "nature killer cells" (NK-Zellen) lösen eine besondere Art der zellvermittelten Zytotoxizität aus. Ihre Zytotoxizität erfordert keine Sensibilisierung durch ein Antigen und ist unspezifisch. Sie richtet sich gegen alles Fremde, so auch gegen Tumorzellen (Kay 1979 a, 1979 b). Die Funktion kann sich durch bestimmte Serumfaktoren verbessern; auch Interferon erhöht die NK-Zellaktivität. Die Abstammung und die Rezeptoreigenschaften der NK-Zelle sind noch nicht genügend geklärt.

$^+$ADCC = antibody dependent cell mediated cytotoxicity

Wahrscheinlich ist die Zelle nicht Thymus - abhängig, besitzt F_c-Rezeptoren, um Immunglobuline binden zu können, aber keine C_3-Rezeptoren für die Komplementbildung (de Vries 1974, Eremin 1978, Herberman 1982). Im Gegensatz zu B-, T-Zellen und Makrophagen unterliegt sie nicht der Kontrolle der MHC$^+$-Gene. Weil sie keiner Sensibilisierung durch ein Antigen und die damit verbundene Entwicklung einer spezifischen Immunantwort bedürfen, sind die NK-Zellen die ersten und schnellsten Effektorzellen des Immunsystems.

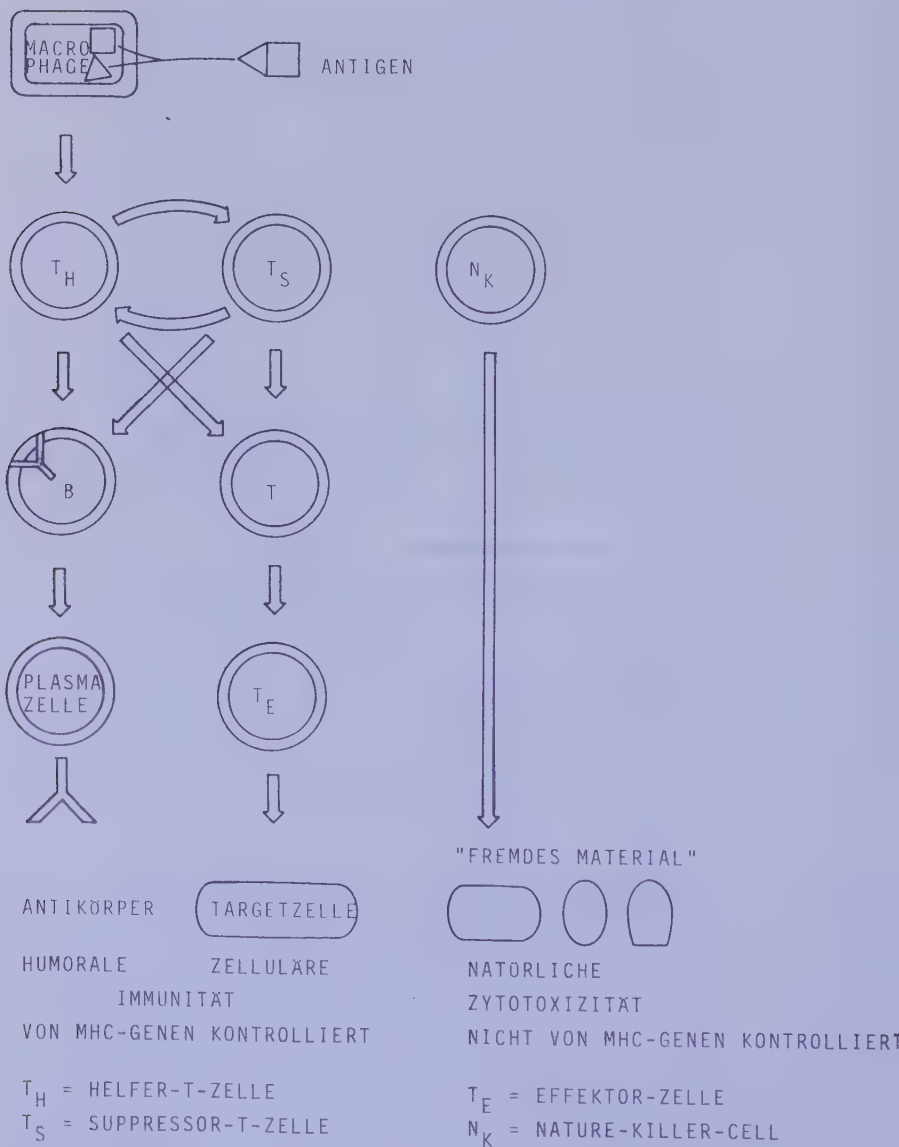
7) B-Lymphozyten werden durch Antigenstimulation zu Antikörper-produzierenden Plasmazellen.

Über den Mechanismus der Kooperation der Makrophagen mit den verschiedenen Subpopulationen der T- und B-Lymphozyten bei der Zielzellzerstörung gibt folgende Skizze eine schematische Übersicht:
(nach Bertrams 1981)

siehe S. 16

$^+$MHC = Major Histocompatibility Complex

SKIZZE:
ZELLKOOPERATION VON MACROPHAGEN, T- UND B-LYMPHOZYTEN
BEI DER IMMUNANTWORT.



Zahlreiche Theorien sind über die Rolle des Immunapparates bei der Entstehung und Vermehrung maligner Zellen in den letzten Jahrzehnten postuliert worden. Die wichtigste ist die von Burnet (197o, 1971) postulierte Theorie der "Immunological Surveillance", die von folgenden vier Gesichtspunkten der immunologischen Tumorabwehr ausgeht:

1. Maligne Zellen besitzen antigene Eigenschaften.

2. Der Wirt ist immun gegen diese Antigene.

3. Eine Immunantwort hat die Tumoreliminierung als Ziel.

4. Eine Schwächung des immunkompetenten Systems schränkt diese Eliminierung ein.

Andere Theorien nehmen einen negativen Effekt auf den Tumor durch die Immunantwort an, d.h. sie fördert das Tumorwachstum (Prehn 1971, 1977, Rowley 1973).

Aufgrund klinischer Beobachtungen und Versuche in vivo und in vitro läßt sich zwar eine effektive immunologische Überwachung des Tumorwachstums vermuten, aber es stellt sich die Frage nach der Ursache der Unzulänglichkeit der Immunabwehr, die das Fortbestehen des antigen wirksamen Tumors im immunkompetenten Wirt ermöglicht.

4.1 Die zelluläre Immunreaktion

Es wird angenommen, daß durch ein Tumorantigen sensibilisierte T-Lymphozyten zur Tumorzellzerstörung führen. (Klein 196o, Wybran 1973, Hellström 1973 b, Götz 1976, Mastrangello 1979)

Diese Reaktion ist dieselbe wie bei der Transplantatabstoßung und wird als Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp ("delayed type hypersensitivy") oder auch zelluläre Reaktion bezeichnet.

Schon 1955 zeigte Mitchinson, daß Immunität gegen Tumoren mit fremden Antigenen durch lymphatische Zellen, nicht aber durch Serum von Tier zu Tier übertragen werden kann.

Prehn (1957) wies eine Tumor-spezifische Immunität bei Inzuchtmäusen nach: Methylcholanthren induzierte Sarkome wurden operativ entfernt. Dieser normalerweise transplantierbare Tumor ging bei diesen vorbehandelten Tieren nicht an, da der Organismus auf die Tumorantigene mit einer Immunantwort reagiert habe.

Auch im Falle des mM konnte gezeigt werden, daß das Mischen von Melanomzellen mit autologen Lymphozyten zur Lymphozytenstimulation führt, während das Zusammenbringen der Lymphozyten mit normalen Zellen keinerlei Veränderungen herbeiführt. (Nagel 1971)

Dies ist nicht nur ein Zeichen der zellulären Immunreaktion, sondern gleichzeitig ein Hinweis dafür, daß die Melanomzelle Antigene trägt, die sie von gesunden Zellen unterscheiden, welche von den Lymphozyten als fremd erkannt werden.

4.1.1 Nachweismethoden der zellulären Immunantwort beim mM

Wie schon in der Einleitung erwähnt, zeigen histologische Untersuchungen ein peritumoröses Lymphozyteninfiltrat als einen Hinweis für eine Immunantwort des Tumorträgers (Hornstein 1973, Burg 1972).

Von besonderer Wichtigkeit sind natürlich Untersuchungen über den Einfluß dieser Lymphozyten auf das Tumorwachstum. Mehrere Autoren konnten zeigen, (Hellström 1973 a, De Vries 1972, 1976, Currie 1973) daß Lymphozyten von Tumorpatienten von Gesunden Tumortargetzellen zerstören. Dabei zeigt sich eine stärkere Lymphozytotoxizität des Melanomträgers gegen Melanomkulturzellen als gegenüber anderen Tumorzellen (Mukherji 1975 b).

Es ist daher richtiger, von einer selektiven als von einer spezifischen Lymphozytotoxizität (in vitro) zu sprechen (Mukherji 1975 a).

Auch bei gesunden Kontrollpersonen läßt sich manchmal eine Lymphozytotoxizität, allerdings in einer wesentlich schwächeren Ausprägung, nachweisen.

Bukowski (1976) findet keinen spezifischen Unterschied zwischen der Lymphozytotoxizität von Melanompatienten und gesunden Kontrollpersonen und schließt daraus, daß es sich wahrscheinlich um unspezifische Zytotoxizität - also ohne vorherige Antigen-Stimulation - handelt.

Manche Autoren gaben eine positive Korrelation zwischen der Lymphozytotoxität und dem klinischen Verlauf an (Hersey 1978 a,b), andere eine negative (Dionigi 198o).
Dionigi betont in seiner Verlaufstudie über die zelluläre Immunität bei Melanompatienten, keine Übereinstimmung in der Lymphozytenfunktion und dem klinischen Krankheitsverlauf gefunden zu haben.

Die Ursache für diese Unterschiede allein ist nach Hallström (1973 a, 1974) in verschiedenen Serumfaktoren zu suchen, die die Lymphozytotoxizität blokkieren oder potenzieren können. (Zu diesem Problem später im Kapitel über die Störfaktoren der Immunabwehr).

Es darf nicht vergessen werden, daß alle Bemühungen der immunologischen Testung in vitro der Frage nachgehen, die gewonnenen Erkenntnisse auf das Tumorverhalten in vivo anzuwenden, um die Zusammenhänge der immunologischen Tumorabwehr und den Krankheitsverlauf im Hinblick auf eine etwaige Tumortherapie zu klären. Die sich teilweise widersprechenden Versuchsergebnisse in vitro entsprechen den in vivo durchgeführten Tests.

An erster Stelle sind die intracutanen Tests zu nennen. Aranha (1979) zeigt eine Korrelation zwischen dem krankheitsfreien Intervall und der Reaktivität der Melanompatienten in Stadien I-V nach Clark gegenüber "common antigens" (=Streptokinase, Streptodornase, gereinigte Proteinderivate, Candida etc.)
Diejenigen Patienten, die eine ausgeprägte Überempfindlichkeitsreaktion als Ausdruck der Lymphozytenreaktivität nach Antigeninokkulation zeigten, gehörten in das Patientenkollektiv mit Level I-II. Sie wiesen eine wesentlich stärkere Immunabwehr auf und zeigten seltener Rezidive. Daraus schließt Aranha, daß der bestimmende Faktor beim Krankheitsverlauf des Melanompatienten die zelluläre Immunkompetenz des Organismus sei.

Bluming (1972) führte intracutane Tests mit autologen Tumorextrakten, verschiedenen Antigenen und autologer gesunder Haut durch und hatte dabei keinen Zusammenhang zwischen Immunreaktivität und Krankheitsdauer feststellen können.

Somit ergeben sich nicht nur aus Vergleichen der Lymphozytenreaktivität mit klinischen Parametern, sondern auch was die Selektivität der Lymphozytotoxizität gegen Melanomzielzellen angeht, bei verschiedenen Autoren widersprüchliche Ergebnisse.

4.2 Die humorale Immunantwort

Die Immunantwort des Organismus auf das Tumorwachstum beschränkt sich nicht nur auf das thymusabhängige T-Zellsystem. Parallel zur Sensibilisierung der T-Lymphozyten setzt, durch das fremde Antigen ausgelöst, die Proliferation der bursaäquivalentabhängigen B-Lymphozyten ein.
B-Lymphozyten entwickeln sich unter förderndem oder hemmendem Einfluß der T-Lymphozyten und Makrophagen zu Plasmazellen, die Antikörper freisetzen, die zytotoxisch auf die antigentragende Zielzelle wirken können.
Es werden neben den zur Zielzellzerstörung führenden zytotoxischen Antikörpern noch zahlreiche andere genannt, die ein Fortbestehen der Tumorzellvermehrung trotz einer Immunantwort des Wirtorganismus zulassen. Diese besetzen z.B. das Antigen der Tumorzelle, ohne daß diese Antigen-Antikörper Reaktion eine Veränderung der Zellbiologie herbeiführt und heißen daher blockierende Antikörper (Götz 1976).

4.2.1 Nachweismethoden der humoralen Immunantwort beim mM

Im wesentlichen stehen zum Nachweis von Antikörpern gegen das mM folgende Methoden zur Verfügung:

1) Immunfluoreszenztest
2) Komplementabhängiger Zytotoxizitätstest
3) Immunadhärenztest

In Seren von Patienten mit mM wurden mit diesen Methoden Antikörper gefunden, welche als Beweis einer humoralen Reaktion gegen TAA angesehen werden.

Morton (1968) beschreibt in seinen Experimenten mit Hilfe des Immunfluoreszenztests ein Immunglobulin der IgG und der IgM-Klasse, welches mit autologem und homologem Tumormaterial reagiert. Mit der gleichen Technik wurden auch von Lewis (1969, 1972 a,b), Nairn (1971) und The (1975) Antikörper in vitro gegen Melanomzellkulturen nachgewiesen.

Der Zytotoxizitätsnachweis wird durch Inkubation von Seren mit Tumorzellen und Zugabe von Komplement geführt. Der Zelltod wird entweder durch die Farbaufnahme der Zielzellen von Trypan-blau, oder einem Sichloslösen von dem, dem Zellkulturflaschenboden anhaftenden Zellrasen und dessen Darstellung mit dem Phasenkontrastmikroskop angezeigt.

Ferrone (1977) stellt in seiner Arbeit fest, daß die Rate an zytotoxischen Antikörpern bei Melanompatienten signifikant höher ist, als die bei Patienten mit anderen Krebsarten bzw. karzinomfreien Patienten.

Mit Hilfe der Immunadhärenztechnik (unter Verwendung von Tumorzellen, Patientenserum, Komplement und Indikatorerythrozyten) findet Shiku (1976) Antikörper bei Melanompatienten und zeigt gleichzeitig zwei verschiedene Antigengruppen auf: die der individuellen, nur auf einer Melanomlinie vorhandenen und die einer ganzen Melanomgruppe gemeinsamen, oder "shared" Antigene.

Mit der Bedeutung der zirkulierenden Antikörper im Serum für das Melanomwachstum und seine Metastasierung beschäftigen sich mehrere Arbeiten von Lewis (1972 b, 1973, 1979).

Er schließt aus seinen Experimenten, daß ein Antikörpernachweis im Serum des Melanompatienten entweder mit einem frühen Stadium oder mit lokalisiertem Wachstum verbunden ist und ein Schwinden der Antikörper bzw. ihr Fehlen mit einem disseminierten Wachstum korreliert.

Diesen Veränderungen des Immunstatus des Patienten während des Tumorwachstums könnten folgende zwei Ursachen zugrunde liegen :

1. Bildung von Anti-Immunglobulinen, die gegen die Antitumor-Antikörper gerichtet sind.

2. Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen, bestehend aus Tumorantigen und spezifischen Antikörpern.

Mit diesem Konzept des "immune derangement in malignancy" erklärt Lewis (1979) die Ineffektivität der Immunantwort bei ständiger antigener Stimulation durch den Tumor.

5. FAKTOREN, DIE DIE IMMUNANTWORT BEEINFLUSSEN

Eine Immunantwort auf ein fremdes Antigen führt im gesunden Immunsystem normalerweise zur Eliminierung des fremden Materials. Trotz einer Vielzahl von Hinweisen auf eine Immunogenität des Tumors unterbleibt die Eliminierung in diesem Fall.

Es gibt mehrere Mechanismen, die dieses Versagen der Immunantwort begründen können und somit das Überleben des "fremden" Wirts erklären.

5.1 Tumorspezifische Immuntoleranz

Als tumorspezifische Immuntoleranz wird die Reaktionsunfähigkeit des immunkompetenten Systems gegenüber einem bestimmten Tumorantigen bezeichnet.

Sie wird als p r i m ä r e Immuntoleranz bezeichnet, wenn sie während der Embryonalentwicklung angelegt wird. Als Beispiel dienen Tierversuche, in denen neugeborenen Mäusen mit noch nicht ausdifferenziertem RHS onkogene Viren verabreicht wurden. Diese führen dazu, daß bei späterer Konfrontation des ausgereiften RHS mit dem gleichen onkogenen Virus, der Tumor ungehindert angeht.

Eine beim ausgereiften immunkompetenten System erworbene Toleranz wird als s e k u n d ä r e Immuntoleranz bezeichnet. Sie kann durch Verabreichung geringer, oder extrem hoher Antigendosen, oder bei schwacher Antigenität erzielt werden (Götz 1976). Beim mM ist über die Rolle der Immuntoleranz nichts näheres bekannt.

5.2 "Escape"-Phänomen

Unter dem "Escape"-Effekt wird ein "Ausweichen der Tumorzelle" vor den Einwirkungen einer Immunreaktion verstanden. Dieser Mechanismus ist dann möglich, wenn sich die Antigenität verändert, oder sogar verloren geht.
Die an das Zelloberflächenantigen der Melanomzelle gebundenen Antikörper wandern als Antigen-Antikörper-Komplexe zu einem Zellpol (capping), um anschließend ins Medium freigesetzt zu werden (shedding). Dieses Phänomen kann in vivo der Antigenmodulation entsprechen und erklärt eine Möglichkeit des Ausweichens der Melanomzelle vor einer effektiven Immunantwort (Leong 1977 b, 1979).
Auch als Ursache der Disseminierung von experimentellen Tumoren ist diese Antigenmodulation mit dem daraus resultierenden "Escape"-Phänomen von Kim (1975) und Kripke (1974) beschrieben worden.

5.3. "Sponge"-Phänomen

Unter dem "Sponge"-Effekt wird ein bei Antigenüberschuß stattfindendes "Aufsaugen" von Antikörpern durch kreuzreagierende Antigene verstanden.

Je nach Art des Antikörpers - ob zytotoxisch, blockierend oder deblockierend - ergibt sich daraus ein positiver oder negativer Einfluß auf das Tumorwachstum.

5.4 Suppressor - Zell - Aktivität

Als Suppressor Zellen wird eine T-Zell-Population bezeichnet, die sowohl die humorale, als auch die zelluläre Immunreaktion zu hemmen vermag. Sie scheinen eine wichtige Rolle in der Homöostase des Immunsystems, in der Immunüberwachung, beim Auftreten von Immuntoleranz und bei der Vorbeugung gegen allergische und autoimmune Prozesse zu spielen (Sell 1977, Miller 1979, Bertrams 1981).
Suppressor T-Zellen können durch B-Zellen aktiviert werden und dadurch die Immunreaktion gegen das mM stören (Ninnemann 1978).

5.5 Tumorspezifisches Enhancement

Das tumorspezifische Enhancement ist ein wesentliches Phänomen der Tumorimmunologie, das erklärt, warum das Wachstum eines Tumors auch bei einem intakten Immunsystem möglich ist. (McKhann 1971)
Es wird definiert als ein Vorgang, der das Tumorwachstum begünstigt. (Götz 1976)
Bereits Anfang des Jahrhunderts (Flexner 19o7) wurde festgestellt, daß durch eine vorangehende Immunisierung mit Tumorgewebe bessere Wachstumsbedingungen für das Angehen syngener Tumore geschaffen werden (Koldovsky 1974).

Kaliss (1958) zeigte, daß nach Inokulation allogener Antiseren gegen das H-2 Antigen nicht die zu erwartende Schädigung eines Transplantats auftritt, sondern ein besseres Wachstum des transplantierten Tumors.

Folgende Mechanismen erklären dieses Enhancement-Phänomen:

1. Enhancement in der afferenten Phase der Immunantwort.
   Eine Antigenerkennung durch immunkompetente Zellen bleibt aus, da die antigenen Determinanten durch kreuzreagierende, oder nach vorausgehender Sensibilisierung durch blockierende Antikörper oder Antigen-Antikörper-Komplexe besetzt sind.

2. Enhancement in der zentralen Phase der Immunantwort.
   T- und B-Lymphozyten werden durch TAA zur Profileration angeregt. Wenn die B-Zellklone blockierende Antikörper produzieren, begünstigen diese das Tumorwachstum. Andererseits können Membranrezeptoren sensibilisierter Zellen durch Antikörper oder Antigen-Antikörper-Komplexe besetzt sein.

3. Enhancement in der efferenten Phase der Immunantwort.
   Die Zerstörung der Zielzellen durch TAA sensibilisierte Killer-Zellen findet nicht statt, da nichtzytotoxische Antikörper oder Antigen-Antikörper-Komplexe^{+} die Rezeptoren der Effektor-Lymphozyten besetzt haben. (Sell 1977, Bansal 1976)

Ag-Ak-Komplexe^{+} = Antigen-Antikörper-Komplexe

Es gibt eine Reihe experimenteller Beweise für dieses Enhancement-Modell.
Rao (1976) untersuchte den Einfluß von löslichem Tumorantigen auf die Immunantwort während der Induktionsphase, also das efferente Enhancement. Er fand, daß eine spezifische Sensibilisierung mit Tumorantigenen das Tumorwachstum in vivo begünstigt, und daß dieses Phänomen mit einer gleichzeitigen Schwäche der zellvermittelten Zytotoxizität in vitro korreliert.

Ähnliche Ergebnisse über das zirkulierende Tumorantigen als Ursache eines beschleunigten Tumorwachstums erzielten auch Vaage (1971, 1974) und Ando (1979).

Die größte Bedeutung beim Auslösen des Enhancement-Mechanismus haben allerdings die Ag-Ak-Komplexe, die sowohl während der Induktionsphase (afferentes Enhancement) als auch während des Beginns (zentrales Enhancement) der Überempfindlichkeitsreaktion vom Spättyp eine Rolle spielen können. (Sjögren 1971, 1972, Bansal 1976.)

5.6 Immunkomplexe

Eine physiologische Immunantwort, die zum Ziel hat ein fremdes Antigen zu eliminieren, um den Wirtsorganismus zu schützen, besteht in der Bildung von zellulären und humoralen Antikörpern. Humorale Antikörper, die an lösliches Antigen gebunden sind, werden als Immun- oder Ag-Ak-Komplexe bezeichnet. Von Pirquet war der Erste, der 1905 die Ursache der Serumkrankheit (=generalisierte Überempfindlichkeitsreaktion) in toxischen Stoffen

die als Produkt der Antigen-Antikörper-Reaktion entstehen, gesehen hat. Daß diese toxischen Produkte zirkulierende Ag-Ak-Komplexe sind, wurde zuerst von Dixon (1958) beschrieben.
Er erkannte, daß die Serumkrankheit mit ihren typischen Symptomen der Immunkomplexvaskulitis verschiedener Organe sich nur bei geringer Antikörperproduktion im Antigenüberschuß manifestiert (Sell 1977).

Immunkomplexe sind für die Pathogenese einer Reihe von Erkrankungen maßgebend: Glomerulonephritis, Vaskulitis und Arteriitis, ebenso auch für Erkrankungen verschiedener Pathogenese wie z.B. Lupus erhytematodes, rheumatoider Arthritis, Felty-Syndrom, Sjögren-Syndrom, Panarteriitis nodosa u.a.

Neben dieser seit langem bekannten Eigenschaft der Immunkomplexe[+], als Auslöser eines Entzündungsprozesses zu fungieren, wurde in den letzten Jahren ihre Rolle als Regulator der humoralen und zellulären Immunantwort entdeckt und näher untersucht.

Es häufen sich Arbeiten darüber, daß während einer malignen Erkrankung Ag-Ak-Komplexe im Patientenserum gefunden werden. So wurden z.B. IC in den Nierenglomeruli von Patienten mit Mamma-Ca (Barton 1980), mit Colon-Ca (Costanza 1973, Couser 1974), mit Bonchial-Ca (Lewis 1971 b) und mM (Olson 1979) gefunden.

[+]IC - Immunkomplexe

Bei manchen wurde während der Tumorerkrankung ein nephrotisches Syndrom diagnostiziert, so daß sogar der Vorschlag entstanden ist, bei Patienten mit nephrotischem Syndrom eine Tumorsuche zu veranlassen (Theofilopoulos 1979).

5.6.1 Die Bildung von Ag-Ak-Komplexen

Die Wechselwirkung zwischen Antikörpern und Antigenen ist eine reversible Reaktion, die mit folgender Formel dargestellt werden kann:

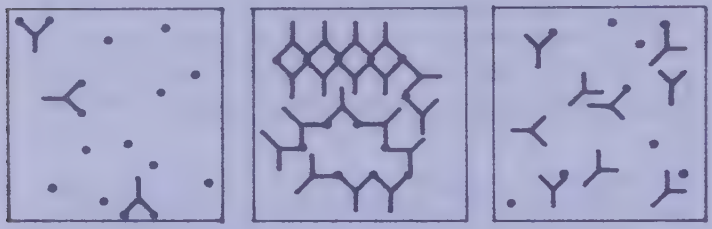
$Ag + Ak \rightleftharpoons AgAk$ (Haakenstadt 1977)

Das Zustandekommen dieser Bindung und die biologischen Eigenschaften des Komplexes sind von folgenden Parametern abhängig:
Größe und Anzahl der Determinanten des Antigens; Immunglobulinklasse, Menge und Affinität des Antikörpers und Komplementfixation (Nydegger 1980).
So bildet z.B. ein monovalentes oder bivalentes Antigen kleine Komplexe (A_1Ab_1 , Ag_1Ab_2), ohne große Gitterstrukturen aufbauen zu können und persistiert daher lange im Kreislaufsystem; im Gegensatz zu einem multivalenten Antigen, welches große Präzipitate bildet, die schnell phagozytiert werden.

Von entscheidender Bedeutung ist das relative Mengenverhältnis von Antigenen zu Antikörpern, welches das Schicksal des Komplexes und seine Funktion im Organismus bestimmt.

Dabei sind theoretisch folgende drei Mengenverhältnisse zu berücksichtigen:

1. Antigen überschuß
2. Äquivalenzbereich
3. Antikörperüberschuß



Y = ANTIKÖRPER • = ANTIGEN

1. Bei A n t i g e n - Ü b e r s c h u ß bilden sich nur kleine, lösliche Komplexe, die kein oder wenig Komplement binden können und daher zu keiner Entzündung führen, obwohl sie lange Zeit im Körperkreislauf verbleiben können.

2. Im Ä q u i v a l e n z b e r e i c h zwischen Antigen und Antikörpern, oder bei einem geringen Antigen-Überschuß, liegt die stärkste Potenz zur Auslösung einer Entzündung durch die Komplexe, denn sie sind löslich und groß genug, um Komplement zu fixieren, und können nicht schnell phagozytiert werden.

3. Bei A n t i k ö r p e r - Ü b e r s c h u ß bilden sich sehr große, unlösliche Gitterstrukturen, die zwar durch ihre Fähigkeit Komplement zu fixieren, ein Entzündungspotential besitzen; da sie aber wegen ihrer Größe schnell vom RHS eliminiert werden, führen sie nicht zu nennenswerten Reaktionen.

Ein weiterer wesentlicher Faktor, der die Eigenschaften der Immunkomplexe bestimmt, ist die Dauer der Antigenexposition. Hierbei wird zwischen der einmaligen Antigenexposition ("one shot") und der lange andauernden Antigenzufuhr ("chronic") unterschieden. Bei einem malignen Tumor steht der Organismus - wenn man von der Operations- und anderen Tumortherapiemöglichkeiten einmal absieht - unter ständiger Antigenzufuhr.

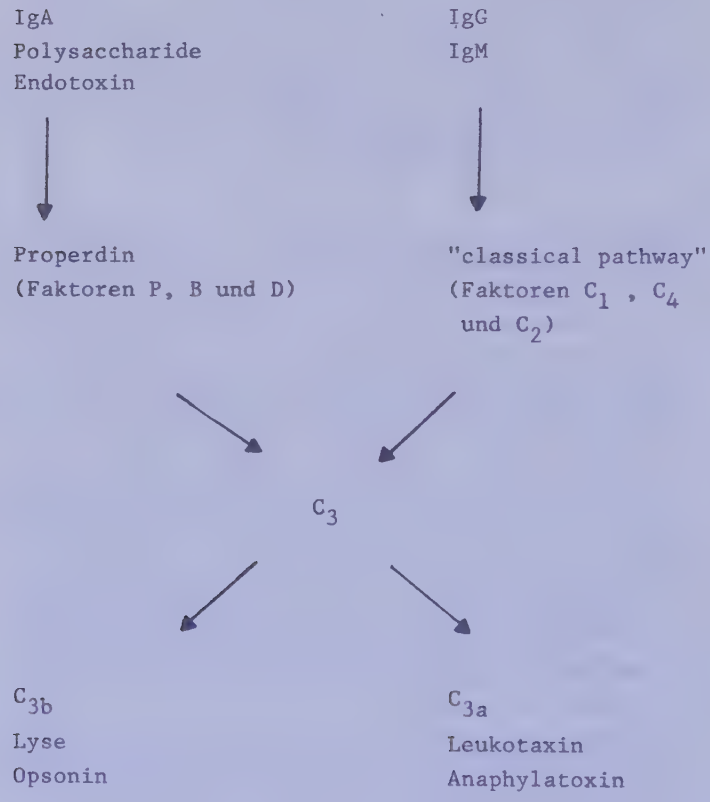
5.6.2 Interaktionen der IC mit dem Komplementsystem

Das Komplementsystem wird (nach WHO) definiert als ein System im normalen Serum vorkommender Faktoren, das in erster Linie durch Antigen-Antikörper-Komplexe aktiviert wird.

Die Folgen sind: Freisetzung von Entzündungsmediatoren, Zytolyse und Anregung der Antikörpersynthese. Nach Mannik (1971) erfordert eine Komplementfixierung durch lösliche IC aus IgG Antikörpern eine Mindestzahl von zwei bis drei Antikörpermolekülen, die in einem Immunkomplex gebunden sind (Ag Ak_2, Ag Ak_3).

Immunkomplexe können das Komplementsystem wie in folgender Graphik nach Masson, 1978 (siehe S. 33) dargestellt, sowohl über den "classical pathway" als auch über den "alternativ pathway" (=Properdinsystem) aktivieren.

Aktivierung des Komplementsystems und die biologischen Folgen:



5.6.2.1 Folgen der Komplementaktivierung

Aus der Komplementaktivierung resultieren folgende biologische Phänomene (Theofilopoulos 1979, Gupta 1979 c):

1. I m m u n a d h ä r e n z : C_3-Rezeptoren tragende Zellen (Leukozyten, Makrophagen) lagern sich an die IC an.

2. C h e m o t a x i s, (L e u k o t a x i s) bezeichnet die durch C_{5a} hervorgerufene Leukozytenmigration.

3. A n a p h y l a x i e entsteht durch Anlagern von C_3 und C_{5a} an Mastzellen und durch ihre durch Degranulation freiwerdende "vasoaktive" Substanzen und "slow reacting substances of anaphylaxis".

4. Zur d i r e k t e n Z e l l y s e kommt es durch das Ablaufen der Komplementsystem-kaskade, wobei Membranschädigungen in Form von s.g. "holes" entstehen, oder i n d i r e k t durch Vermittlung von s.g. "bystander"-Zellen. Ein schützender "repair"-Mechanismus konkurriert mit diesem Komplementangriff (Opferkuch 1976).

5. L e u k o z y t e n f r e i s e t z u n g aus dem Knochenmark folgt der Komplementaktivierung.

6. M a k r o p h a g e n a k t i v i e r u n g, vermittelt durch Faktor B des "alternativ pathway", verursacht Freisetzung lysosomaler Enzyme.

7. Der Faktor C_{3b} vermittelt sowohl die Solubilisation von Immunkomplexen als auch

8. die Freisetzung von zellulär gebundenen Immunkomplexen.

5.6.3 Interaktionen der Immunkomplexe mit verschiedenen Zellsystemen

Immunkomplexe können sich an folgende Zellen durch ihre Fc- und C-Rezeptoren anlagern: Erythrozyten, Thrombozyten, Neurotrophile, Makrophagen, Eosinophile und B- und T-Lymphozyten.
Dadurch erklärt sich das Eingreifen der Immunkomplexe in so mannigfaltige biologische Funktionen, wie z.B. die Blutgerinnung, Phagozytose, Anaphylaxie und die humorale und zelluläre Immunantwort.

5.6.4 Einfluß der Immunkomplexe auf die Immunantwort

Durch die Wechselwirkungen zwischen Immunkomplexen mit den Fc-, C- und Antigen-Rezeptoren der Immunzellen sind sie als Regulatoren der humoralen und zellulären Immunantwort zu verstehen. Je nach dem molaren Verhältnis der Antigene und Antikörper, der Antikörperklassen und Affinität vermögen sie die Immunantwort zu steigern oder zu unterdrücken.

5.6.4.1 Hemmung der humoralen Immunantwort

Es gibt eine Reihe experimenteller Beweise für eine Unterdrückung der Antikörperproduktion durch Ag-Ak-Komplexe (Theofilopoulos 1979, 198o b).

Eine Anlagerung der Immunkomplexe an die Antigen- und Fc-Rezeptoren der B-Zellen führt entweder zu einer direkten Blockierung der Antikörperproduktion oder zu einer Freisetzung löslicher Suppressorfaktoren.
Eine weitere Möglichkeit, die humorale Immunantwort zu hemmen, besteht in der Aktivierung der Suppressor-T-Zellen, oder Blockade der Antigen-Rezeptoren auf T-Zellen durch Immunkomplexe, wodurch eine Differenzierung von B-Zellen zu Plasmazellen verhindert wird.

Die für eine effektive Immunantwort erforderliche Kooperation der B- und T-Zellen und der Makrophagen wird durch Immunkomplexe negativ beeinflußt. (Biran 1979).

Mit in vitro Versuchen konnte außerdem gezeigt werden, daß Ag-Ak-Komplexe "leucocyte-dependent antibody" (LDA) Aktivität gegen Melanomzellen hemmen und somit der Tumorzellzerstörung entgegenwirken. (Murray 1977).

5.6.4.2 Steigerung der humoralen Immunantwort

Eine Reihe Arbeiten beschreibt einen positiven Effekt der Ag-Ak-Komplexe auf die Immunantwort. (Theofilopoulos 1979).

Unter Immunkomplex-Stimulation steigt die DNA-Synthese der B-Zellen und es findet eine schnellere Lokalisierung von Antigen innerhalb eines Lymphfollikels statt. Die Bindung des Antigens durch Antigen-Rezeptor tragende Zellen wird begünstigt. Eine elementare Voraussetzung für die Reaktion der Immunzellen mit einem Antigen ist die sog. Prozessierung des Antigens durch Makrophagen. Dieser Mechanismus wird durch Immunkomplexe gefördert. Auch die Helfer-T-Lymphozyten werden stimuliert. Durch die Eigenschaft der Immunkomplexe, Fc- und C_3-Rezeptoren zu besitzen, werden kooperierende Immunzellen einander genähert und die Reaktionen beschleunigt.

5.6.4.3 Einfluß der Immunkomplexe auf die zelluläre Immunantwort

Ob es zu einer die Immunantwort steigernden oder hemmenden Funktion der Immunkomplexe kommt, hängt von dem molaren Verhältnis vom Antigen zum Antikörper ab. Bei Antigen-Überschuß wird die antikörperabhängige zellvermittelte Lymphozytolyse ("antigen-dependt cell-mediated cytotoxicity" = ADCC) behindert. Bei Antikörper-Überschuß werden Lymphozyten "armiert" und damit die ADCC begünstigt.
Für das Problem des Versagens der immunologischen Tumorabwehr ist die Blockierung der zellvermittelten Zielzellzerstörung durch Lymphozyten und Makrophagen entscheidend. Sjörgen (1971, 1972) beschreibt, daß eine wichtige Ursache für das Versagen der Immunantwort bei Tumorpatienten die Bildung sog. "blocking factors" ist, wobei diese als Ag-Ak-

Komplexe von zahlreichen Untersuchern identifiziert werden konnten. (Hellström 1971, 1973 a, Baldwin 1972, Heier 1977, Höffken 1977, 1978, Jose 1974).

5.6.5 Methoden zum Nachweis von Immunkomplexen

Es sind eine Reihe von Methoden entwickelt worden, mit denen Immunkomplexe nachgewiesen werden können. Immunkomplexablagerungen im Gewebe werden mit Hilfe der Fluoreszenzmikroskopie dargestellt.
Nachweismethoden für im Serum zirkulierende Komplexe werden unterschieden in antigenspezifische Methoden, bei bekanntem Antigen und antigenunspezifischen Tests, die auf den biologischen Eigenschaften der Immunkomplexe basieren (Theofilopoulos 1976, 1979, 198o a). Hierzu zählen als wichtigste die Komplementverbrauchtests und Methoden, die auf der Fähigkeit der Komplexe basieren, sich an Clq Komplements (Rossen 1977), an Rheumafaktoren, an Fc-Rezeptoren bestimmter Zellen, an Blutplättchen oder an Raji-Zellen anlagern.

6. MATERIAL UND METHODEN

6.1 Serumproben

132 Patienten der Hautklinik der Universität Düsseldorf mit histologisch nachgewiesenem mM unterschiedlichen Typs und Stadiums wurde venöses Blut entnommen. Nach zwei Stunden Gerinnungszeit bei Zimmertemperatur wurden die Serumproben bei 1o°C 15 Min. mit 3ooo Upm zentrifugiert.
Das gewonnene Serum wurde in 2 ml Portionen aufgeteilt, eingefroren und bis zum Versuch bei -7o°C aufbewahrt.
Als Kontrolle dienten Seren von gesunden Spendern und Patienten mit nicht malignen Erkrankungen. (Gewinnung und Aufbewahrung des Serums, wie oben erwähnt)

Vor Beginn des Raji-Zell-Versuchs wurden die Serumproben bei Zimmertemperatur aufgetaut und danach bei 56°C 3o min. hitzeinaktiviert.

6.2 Raji-Zell-Radioimmunassay^{+}

Der von Theofilopoulos (1976, 1977) beschriebene Raji-Zell-Versuch zur Messung von Immunkomplexen in menschlichen Seren wurde in leicht modifizierter Form angewandt.
Die Raji-Zelle ist eine lymphoblastoide Zelle: benannt nach einem an Burkitt-Lymphom erkrankten Jungen. Sie besitzt Rezeptoren für C_{3b}- und C_{3d}-Proteine des Komplements, für das Fc-Fragment des IgG, dagegen kein membrangebundenes Immunglobulin.

Raji-RIA^{+} = Raji-Zell-Radioimmunassay

Die Fc-Rezeptoren der Raji-Zelle haben eine sehr geringe Affinität zur Bindung von IgG, so daß das gesamte gebundene IgG aus den Immunkomplexen entstammt, die über die C_{3b} und C_{3d} - Rezeptoren mit hoher Affinität angelagert sind.

Die Raji-Zellen für diese Versuche haben wir von Prof. Harald zur Hausen, Direktor des Instituts für Virologie im Zentrum für Hygiene des Klinikums der Albert-Ludwig-Universität, Freiburg, erhalten.

Die Raji-Zellkulturen wachsen im RPMI-Medium mit Zusatz von 10% fetalem Kälberserum, Glutamin und Antibiotika. Vier Tage nach Splitten erreichen sie eine durchschnittliche Zellkonzentration von $1,5 \times 10^6$ Zellen/ml.
Zur Fixation wurden sie zentrifugiert und nach Waschen mit PBS^+ (phosphate buffered saline pH 7,2) ~~mit~~ o,2%-iger Formalinlösung in PBS für 30 min bei Zimmertemperatur unter ständigem leichten Schütteln inkubiert.
Die Raji-Zellen werden danach mehrmals mit PBS gewaschen und in diesem Puffer mit Zusatz von o,2% Nitrat in der für den Versuch geeigneten Konzentration von 2×10^6 Zellen/ml bei 4 °C aufbewahrt. Auch mehrere Wochen nach Fixation unter beschriebener Lagerung ist ihre Fähigkeit zur Bindung von Immunkomplexen im Vergleich zur lebenden Raji-Zelle nicht verändert.

PBS^+ = phosphate buffered saline

Die aufgetauten Serumproben wurden mit PBS in einer Konzentration von 1:5 und 1:4o verdünnt und jeweils mit o,1 ml Suspension von 2 x $1o^6$ Raji-Zellen für 3o min. bei Zimmertemperatur inkubiert.

Nach der Inkubation und dreimaligem Waschen mit PBS wurden sie mit ^{125}I-markiertem Protein A beschichtet. Die Inkubationszeit der Serumproben mit Raji-Zellen und ^{125}I-markiertem Protein A beträgt 3o min. bei Zimmertemperatur.
(Rocho 1979)
Danach werden die Proben dreimal mit PBS gewaschen, um sie von nicht gebundenem Protein A zu befreien. Anschließend wurde ihre Radioaktivität durch das Gamma-counter-Gerät (Packard) gemessen. Als Leerwert diente eine mit ^{125}I-markiertem Protein A inkubierte PBS-Lösung.

Es ist technisch nicht durchführbar, dieselbe Menge an markiertem ^{125}I-Protein A zu erhalten. Um die an verschiedenen Tagen mit unterschiedlichen ^{125}I-Protein A-Ansätzen gemessenen cpm-Werte der Serumproben miteinander vergleichen zu können, wurden diese auf folgende Weise zu einem Koeffizienten umgerechnet. Der loo µl verdünntes ^{125}I-Protein A-Ansatz wird loo% gesetzt und der gemessene Leerwert (Raji-Zellen, ^{125}I-Protein A, PBS) und der gemessene Serumprobenwert (in cpm) als prozentualer Anteil des zur Markierung verwendeten ^{125}I-Protein A ausgedrückt. Der Koeffizient der Prozentsätze ist somit von den verschiedenen Tageswerten unabhängig und dadurch für alle Proben vergleichbar.

^{125}I-Protein A	=	100 % cpm
Leerwert	=	X % cpm
Serumprobe	=	Y % cpm

Koeffizient für Immunkomplexe der Serumprobe
$z = y : x$

Dieser Koeffizient drückt also aus, wieviel mehr an ^{125}I-Protein A durch die Raji-Zellen nach Inkubation mit Serum, als nach PBS-Inkubation an die Raji-Zellen gebunden wird.

6.3 Statistik

Für die Auswertung der Ergebnisse wurden folgende statistische Verfahren angewandt:

a. Prüfung von Mittelwertsunterschieden der logarithmierten IC-Werte (für Gruppen nach histopathologischen und klinischen Merkmalen eingeteilt):
   i) 2 Gruppen : Student t-Test
   ii) 2 Gruppen : F-Test der einfachen Varianzanalyse

b. Prüfung auf signifikante Unterschiede in der Häufigkeitsverteilung von qualitativen Merkmalen: Chiquadrat-Test (χ^2-Test)

c. Multivalentes logistisches Regressionsmodell für die Prüfung von mehreren Einflußvariablen auf die Überlebensrate: Cox'proportionales Hazardregressionsmodell.

7. ERGEBNISSE

7.1 Patientenkollektiv

Das Serum von 132 Patienten mit mM der Haut aus der onkologischen Ambulanz der Hautklinik der Universität Düsseldorf wurde auf zirkulierende Immunkomplexe untersucht. Die histologische Diagnose wurde, von wenigen Ausnahmen abgesehen, im histologischen Labor der Hautklinik oder im pathologischen Institut der Universität Düsseldorf gestellt. Aus dem Patientenkollektiv wurden Patienten mit anderen Erkrankungen, bei denen eine immunologische Reaktion zu erwarten ist, ausgeschlossen.
Die Daten zum Krankheitsverlauf wurden aus der Dokumentation der laufenden Kontrollen der Patienten in der onkologischen Ambulanz übernommen.
Die Patientenbeschreibung wurde an Hand folgender Merkmale vorgenommen: Geschlecht, Alter, Tumorlokalisation, Tumortyp, Level nach Clark, Tumordicke, Therapie, Metastasenentwicklung, Beobachtungsdauer und Status (lebend, tot, unbekannt) am Ende des Beobachtungsintervalls.

7.1.1 Geschlecht- und Altersverteilung

Unter den 132 Patienten befanden sich 64 Männer (48,5%) und 68 Frauen (51,5%) im Alter von 18 bis 77 Jahren.
Zum Vergleich der klinischen und der immunologischen Daten wurden sie in drei Altersgruppen eingeteilt:

Tabelle S. 45

Alter	Gesamt	Männer	Frauen
< 3o	11 (8,3%)	5 (7,8%)	6 (8,8 %)
3o-5o	55 (41,7%)	29 (45,3%)	26 (38,2%)
> 5o	66 (5o %)	3o (46,9%)	36 (52,9%)

7.1.2 Tumorlokalisation

Die Lokalisation des Primärtumors ist innerhalb des Patientenkollektivs wie folgt auf die Körperteile verteilt:

Lokalisation	Gesamt	Männer	Frauen
Kopf u. Hals	18 (13,6%)	9 (14,5%)	9 (13,6%)
obere Extremität	21 (15,9%)	11 (17,7%)	1o (15,2%)
untere Extremität	51 (38,6%)	15 (24,2%)	36 (54,5%)
Stamm	38 (28,8%)	27 (43,5%)	11 (16,7%)
Unbekannt	4 (3 %)		

7.1.3 Tumor - Typ

Das Patientenkollektiv verteilt sich auf die folgenden Melanomtypen (NM = noduläres Melanom, SSM = "superficial spreading" Melanom, LMM = Lentigo maligna Melanom, Metas.M. = bei Diagnosestellung bereits metastasiertes Melanom).

Tumortypen	Gesamt	Männer	Frauen
NM	44 (33,3%)	23 (35,9%)	21 (3o,9 %)
SSM	6o (45,5%)	27 (42,2%)	33 (45,5%)
LMM	13 (9,8%)	5 (7,8%)	8 (11,8%)
metas.M.	5 (3,8%)	3 (4,7%)	2 (2.9%)
Sonstige	1o (7,8%)	6 (9,4%)	4 (5,9%)

7.1.4 Level

Die Tumoreindringtiefe innerhalb der einzelnen Hautschichten wird durch die "levels of invasion" nach Clark angegeben (Clark 1969).

Beim untersuchten Patientenkollektiv sind die Tumoren wie folgt auf die Level II-V nach Clark verteilt:

Level	Gesamt	Männer	Frauen
II	15 (11,3%)	4 (6,9 %)	11 (17,7%)
III	41 (3o,8%)	2o (34,5%)	21 (33,9%)
IV	56 (42,4%)	28 (49,1%)	26 (41,9%)
V	8 (6,o%)	5 (8,6%)	4 (6,5%)
Unbekannt	12 (o %)		

7.1.5 Tumordicke

Die Tumordicke ist ein wichtiges Kriterium bei der Prognose des mM (Breslow 1979).

Das untersuchte Patientenkollektiv läßt sich nach der Tumordicke wie folgt einteilen:

Tumordicke	Gesamt	Männer	Frauen
≤ o,75 mm	32 (24,o2%)	1o (22,7%)	22 (41,5%)
o,76 mm-1,5omm	22 (16,7%)	11 (25,o%)	11 (2o,8%)
1,51mm-3,oomm	18 (13,6%)	9 (2o,5%)	9 (17,o%)
3,o1mm-4,5omm	15 (11,4%)	7 (15,9%)	8 (15,oo%)
> 4,5o	1o (7,6%)	7 (15,9%)	3 (5,7%)
Unbekannt	35 (26,5%)		

7.1.6 Therapie

Die postoperative Therapie bestand entweder als Immuntherapie aus monatlichen Impfungen mit BCG, oder in Form von Chemotherapie durch BCG in Kombination mit dem Chemotherapeutikum Dimethyl-triazen-Imdazol-Carboxamid (DTIC).

Die Entscheidung darüber, ob die postoperative Therapie und in welcher Form angewandt wird, hängt von der Tumordicke, der Metastasierung und von dem Alter der Patienten ab.

Postoperative Therapie	Gesamt	Männer	Frauen
Keine	23 (17,4%)	9 (14,5%)	14 (2o,9%)
BCG	85 (64,4%)	4o (64,5%)	45 (67,2%)
BCG + DTIC	21 (15,9%)	13 (21,o%)	8 (11,9%)
Unbekannt	3 (2,3%)		

7.1.7 Metastasen

Während des Beobachtungszeitraums wurde bei einigen Patienten eine Metastasierung des mM festgestellt. Metastasen "in loco", "in transit" und Fernmetastasen wurden bei dieser statistischen Auswertung zusammengefasst.

	Gesamt	Männer	Frauen
Keine Metastasen	94 (71,2%)	43 (71,1%)	51 (76,1%)
Metastasen	33 (25,o%)	17 (28,3%)	16 (23,9%)
Unbekannt	5 (3,8%)		

7.1.8 Beobachtungsdauer

Die Beobachtungszeit des untersuchten Patientenkollektivs der onkologischen Ambulanz der Hautklinik erstreckt sich auf die Zeit seit der Operation bis zum Abschluß der Untersuchung (Dez.82/Jan.83). Sie variiert bei dieser Patientengruppe zwischen 2 Monaten und 14 Jahren. Teilt man sie in drei Beobachtungszeiträume ein, so ist innerhalb dieser Zeitintervalle das Patientenkollektiv wie folgt verteilt:

Beobachtungsdauer	Gesamt	Männer	Frauen
< 1 Jahr	35 (26,5%)	21 (34,4%)	14 (2o,6%)
1 - 5 Jahre	8o (6o,6%)	37 (6o,7%)	43 (63,2%)
> 5 Jahre	14 (1o,6%)	3 (4,9%)	11 (16,2%)
Unbekannt	3 (2,3%)		

7.1.9 Status am Ende der Beobachtung

Am Ende der Beobachtung sind in Folge des Tumorwachstums 14 Patienten verstorben.

Status	Gesamt	Männer	Frauen
Lebend	69 (52,3%)	34 (79,1%)	35 (87,5%)
Tot	14 (1o,6%)	9 (2o,9%)	5 (12,5%)
Unbekannt	49 (37,1%)		

7.1.1o Zusammenfassung

In diesem Patientenkollektiv sind für die in den Tabellen beschriebenen Merkmale folgende Zusammenhänge hervorzuheben:

Es besteht ein signifikanter Unterschied (p= o,o2) der Häufigkeitsverteilung der Lokalisation des mM zwischen den beiden Geschlechtern. Die häufigste Lokalisation bei Männern ist der Stamm (43,5%), die bei Frauen dagegen nur bei 16,7% auftritt. Am häufigsten ist das mM bei Frauen auf der unteren Extremität lokalisiert (54,4% gegenüber 24,2% bei den männlichen Patienten).
Ebenso mehrt sich unter Männern die Häufigkeit dicker Tumoren, die Metastasenentwicklung und die Letalität. Diese Unterschiede sind aber nicht signifikant. Aus diesen unabhängig vom Immunstatus erhobenen Befunden läßt sich schließen, daß das hier ausgewählte Patientenkollektiv in der Häufigkeitsverteilung der Merkmale mit denen der Literatur bekannten (van der Esch 1981) vergleichbar ist, so daß die vorliegenden Ergebnisse der Messung der zirkulierenden IC für Melanomkollektive repräsentant sind.

7.2 Ergebnisse des Raji-RIA

7.2.1 Immunkomplexe der Melanompatienten

Die mit Hilfe des Raji-RIA gemessenen IC-Werte in cpm, welche wie zuvor im Kapitel Material und Methoden (6.2) beschrieben, zu Koeffizienten umgerechnet wurden, variieren zwischen einem Minimalwert von 1,56 und einem Maximalwert von 16,84.

Teilt man das Patientenkollektiv in drei Gruppen, bestehend aus Patienten mit normalen IC-Werten (Koeffizient < 2,5), mit erhöhten IC-Werten (2,5 - 7,5) und mit maximal erhöhten IC-Werten (> 7,5) ein, so ergibt sich folgendes Bild:

	Anzahl der Patienten:	relative Häufigkeit:
IC normal	24	18,2 %
IC erhöht	91	68,9 %
IC maximal erhöht	17	12,9 %

Das bedeutet, daß 81,8 % der Melanompatienten pathologisch erhöhte Immunkomplexe im Serum haben.

7.2.2 Immunkomplexe der Kontrollgruppe

Als Kontrollgruppe wurden 9o Personen (44 Männer, 46 Frauen) aus der Wirkungskatasteruntersuchung (Rheinschiene-Süd II, Januar 1982) im Alter von 6o bis 65 Jahren, bei denen keine malignen Krankheiten bekannt waren, ausgewählt. Ein Teil von ihnen wurde wegen unterschiedlicher chronischer Erkrankungen behandelt (39 "kranke"), bei den restlichen 51 Personen wurden keine Erkrankungen diagnostiziert (51 "gesunde").

Die gemessenen Immunkomplexe dieser Kontrollgruppe (zu Koeffizienten umgerechnet) variieren zwischen einem Minimum von 1,27 und einem Maximum von 3,56. Der Vergleich der Mittelwerte der Immunkomplexe der Gruppen "krank" und "gesund" liefert folgendes Ergebnis:
Tabelle S. 53

	n	geom.MW+	Streuf.+	Prüfgr.t+	p
"gesund"	51	1,94	1,27		
				o,oo6	o,94
"krank"	39	1,94	1,23		

Da die Mittelwerte der Kontrollgruppe der "gesunden" und der "kranken" Personen sich nicht unterscheiden, wurden diese Erkrankungen für die Bildung von Immunkomplexen als irrelevant gewertet und die Kontrollgruppe für die weitere Betrachtung als homogen betrachtet.

7.2.3 Vergleich der IC-Werte der Melanompatienten und der Kontrollgruppe

	Minimum	Maximum
IC-Kontrollgruppe	1,27	3,56
IC-Melanompatienten	1,56	16,84

Vergleich der geometrischen Mittelwerte: (Graphik 1)

	n	geom.MW	Streuf.	Prüfgr.t	p
IC-Kontr.	9o	1,95	1,25		
				15,5	o,oo1
IC-Melan.	132	4,3o	1,69		

+ geometrischer Mittelwert, Streufaktor, Prüfgröße t

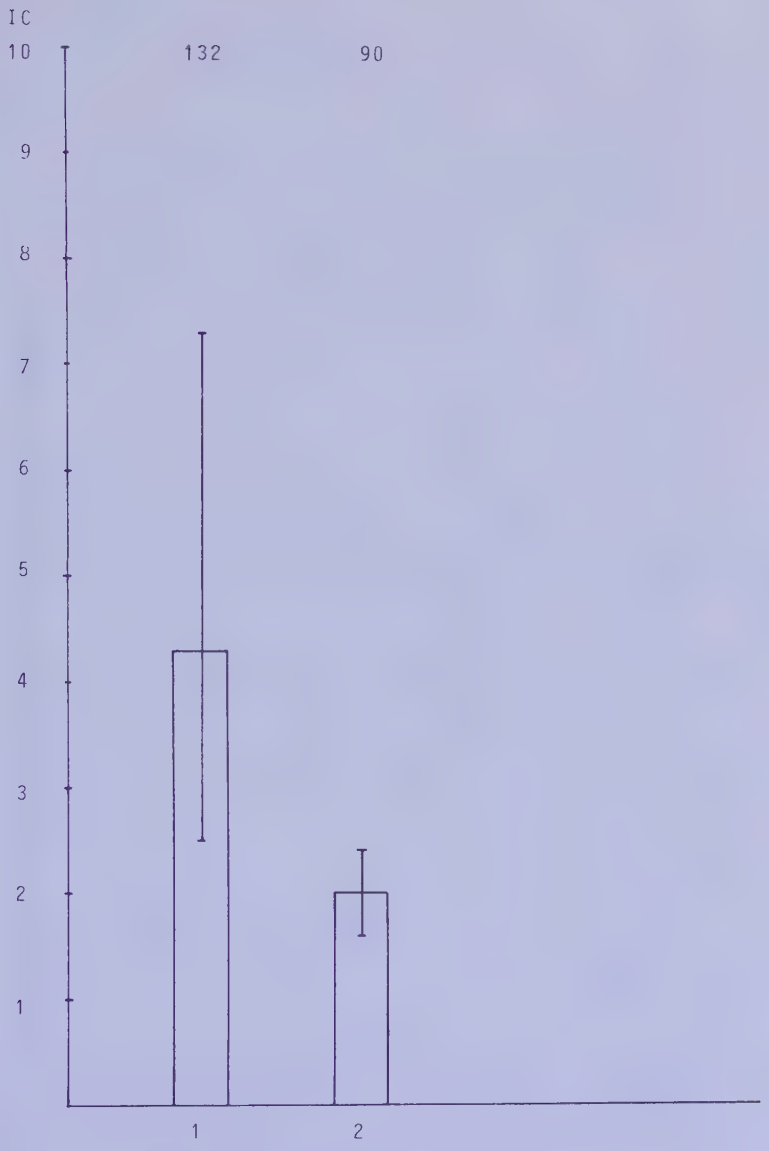
relative Häufigkeit:

	Melanom-Patienten	Kontroll-gruppe:
IC normal	18,2 %	87,8 %
IC erhöht	68,9 %	12,2 %
IC maximal erhöht	12,9 %	0

Ein Histogramm der Verteilung der IC-Werte (logarithmierte Werte) von Melanompatienten und Kontrollpersonen zeigt die folgende Abbildung.

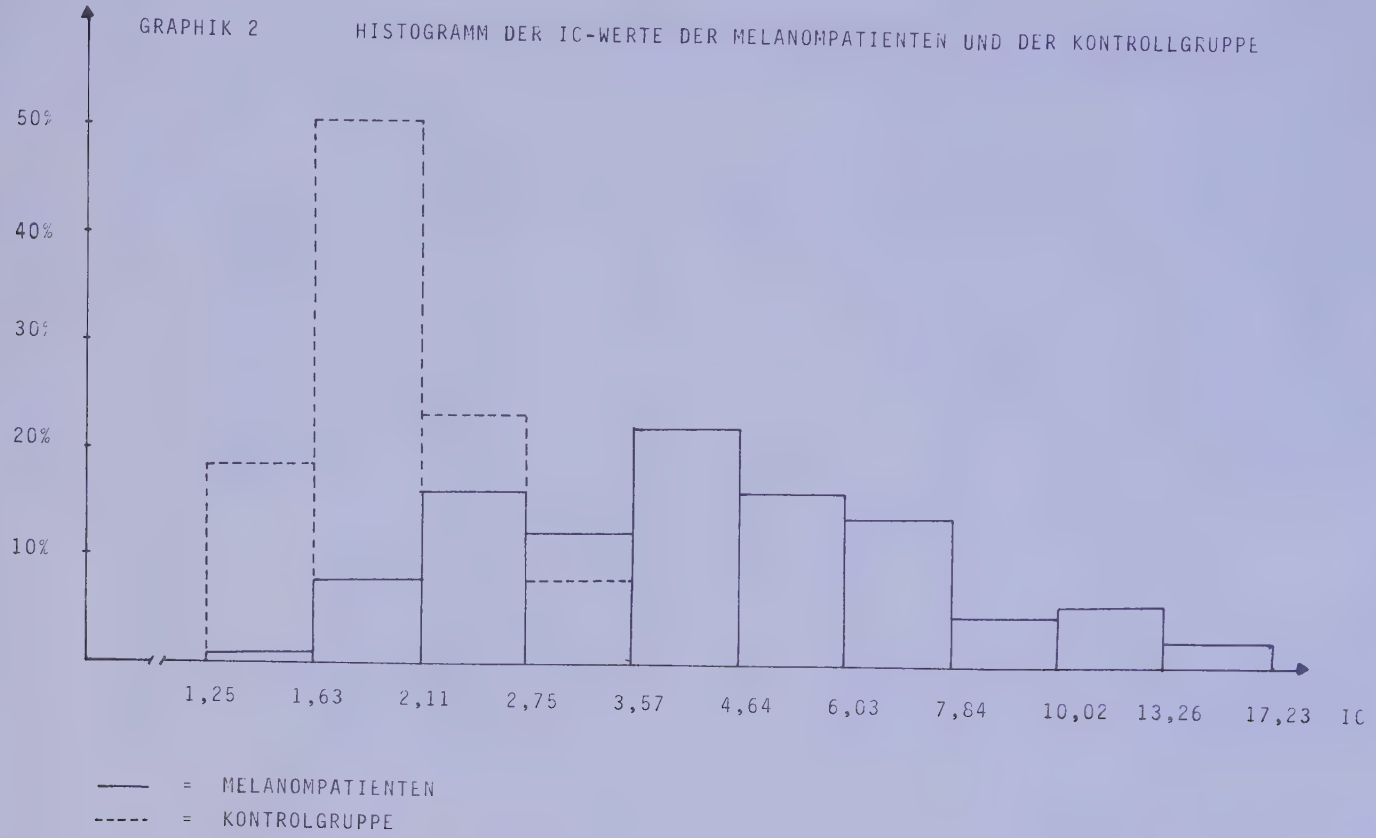
(Graphik 2)

GRAPHIK 1 IC-MITTELWERTE MIT VERTRAUENSBEREICHEN FÜR MELANOMPATIENTEN UND KONTROLLGRUPPE



1 = MELANOMPATIENTEN
2 = KONTROLLGRUPPE

GRAPHIK 2 HISTOGRAMM DER IC-WERTE DER MELANOMPATIENTEN UND DER KONTROLLGRUPPE



7.2.4 Zusammenhang der IC-Werte mit patho-histologischen und klinischen Daten

Der Vergleich der IC-Werte mit patho-histologischen und klinischen Daten liefert bei diesem Patientenkollektiv, nach den jeweiligen Merkmalen geordnet, folgende Ergebnisse. Die Patienten wurden in IC-Level-Gruppen eingeteilt, nach IC < 2,5 (=normal), IC 2,5 - 7,5 (=erhöht) und IC > 7,5 (=maximal erhöht).

7.2.4.1 Geschlechtsverteilung

Der geometrische Mittelwert (MW) der IC-Level bei Frauen ist etwas höher als bei Männern. Es zeigt sich außerdem ein höherer prozentualer Anteil Frauen in der Gruppe mit den höchsten IC-Werten.

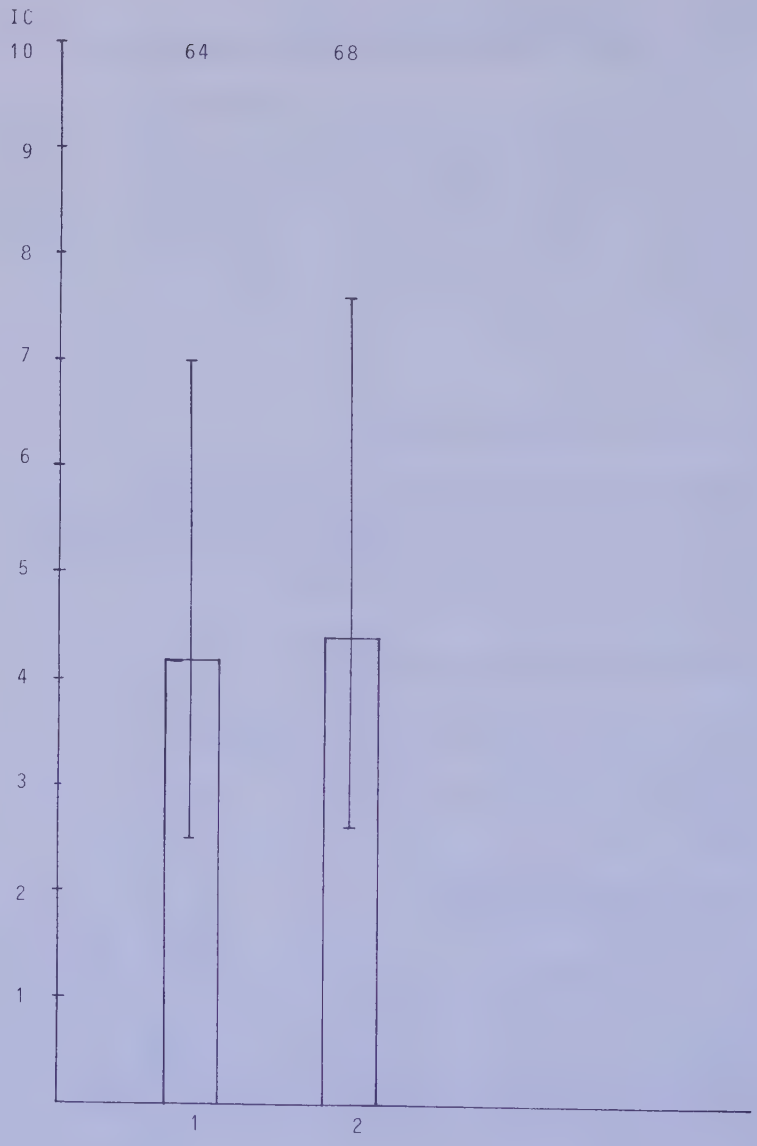
globale Mittelwerte: (Graphik 3)

	n	geom.MW	Streuf.	Prüfgr.t	p
Männer	64	4,2	1,66	o,265	o,61
Frauen	68	4,4	1,72		

Häufigkeitsverteilung:

	IC normal		IC erhöht		IC max. erhöht	
	n	%	n	%	n	%
Männer	12	18,8%	45	7o,3%	7	1o,9%
Frauen	12	17,6%	46	67,6%	1o	14,7%

GRAPHIK 3 IC-MITTELWERTE MIT VERTRAUENSBEREICHEN FÜR GESCHLECHTER



1 = MÄNNER
2 = FRAUEN

7.2.4.2 Altersgruppen

Die Suche nach einer Abhängigkeit der IC-Höhe vom Alter des Patienten führt zu keinem signifikanten Unterschied.

globale Mittelwerte (Graphik 4)

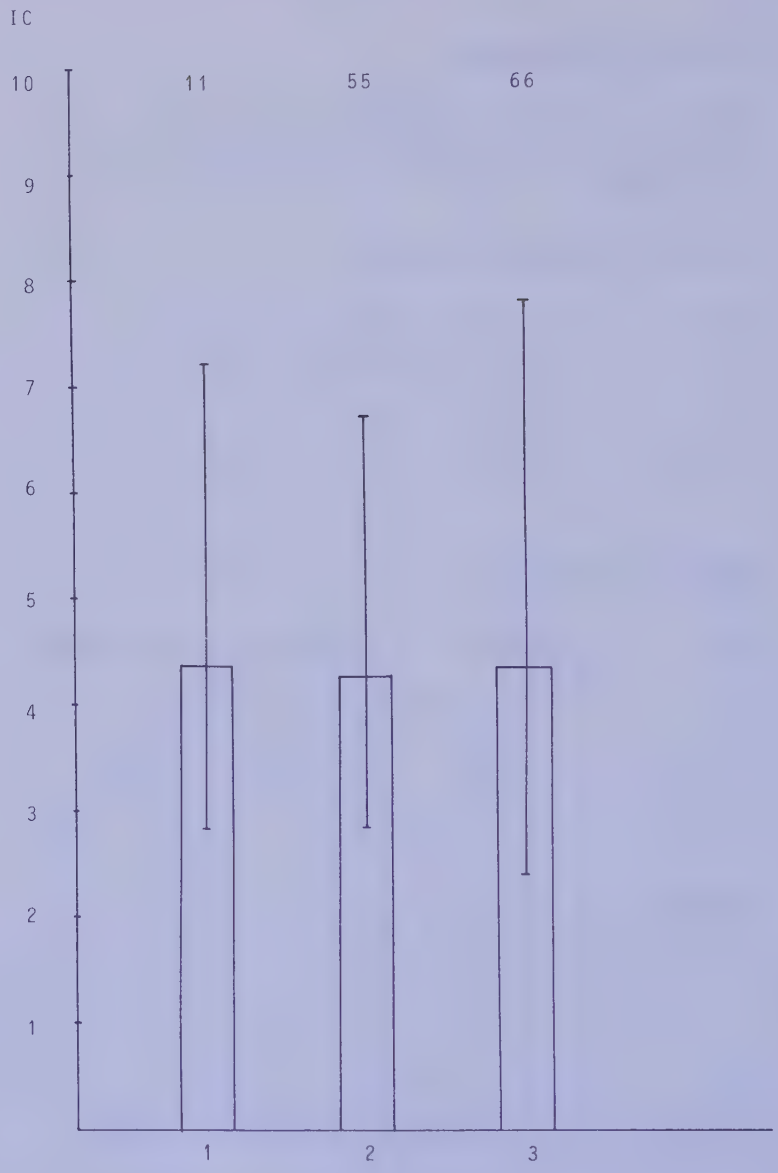
Alter	n	Mittel-wert	Streu-faktor	Prüf-größe F	p
< 3o	11	4,36	1,64		
3o - 5o	55	4,23	1,59	o,o39	o,96
> 5o	66	4,34	1,79		

Häufigkeitsverteilung

Alter	IC-normal		IC-erhöht		IC-max.-erhöht	
	n	%	n	%	n	%
< 3o	2	18,2%	8	72,7%	1	9,1%
3o - 5o	9	16,4%	39	7o,9%	7	12,7%
> 5o	13	19,7%	44	66,7%	9	13,6%

Prüfgröße χ^2 = o,44
Irrtumswahrscheinlichkeit p = o,98

GRAPHIK 4 IC-MITTELWERTE MIT VERTRAUENSBEREICHEN FÜR ALTERSGRUPPEN



1 = < 30 JAHRE 3 = > 50 JAHRE
2 = 30-50 JAHRE

7.2.4.3 Lokalisation

Beim Vergleich der IC-Werte in den verschiedenen Lokalisationsgruppen lassen sich keine eindeutigen Unterschiede feststellen, außer den höchsten IC-Werten bei der Lokalisation des mM im Kopf- und Halsbereich und gleichzeitig bei dem höchsten proz. Anteil der Patienten (22,2%) in der Gruppe mit maximal erhöhten IC-Werten.

globale Mittelwerte: (Graphik 5)

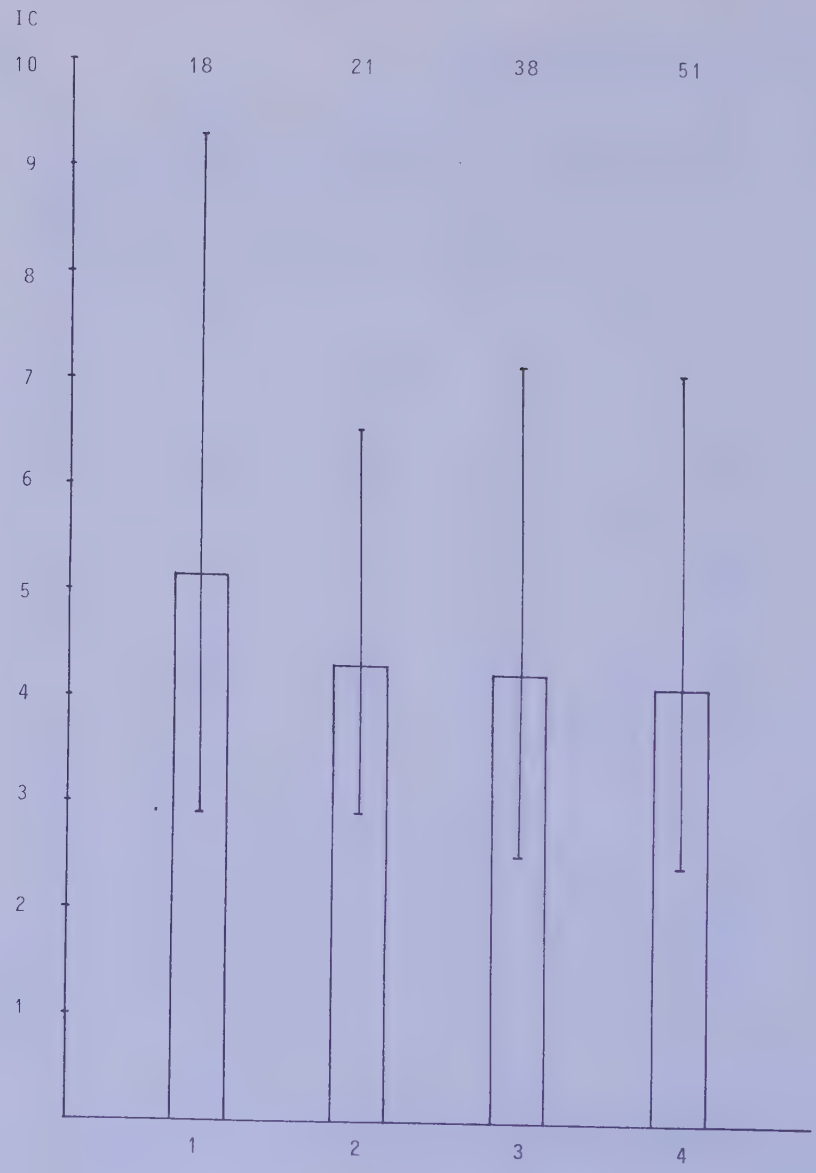
Lokalisation	n	geom.MW	Streuf.	Prüfgr.F	p
Kopf u.Hals	18	5,15	1,8o		
obere Extremität	21	4,32	1,5o	o,918	o,43
Stamm	38	4,2o	1,7o		
untere Extr.	51	4,o9	1,7o		

Häufigkeitsverteilung:

	IC-normal		IC-erhöht		IC max.Erhöht	
	n	%	x	%	n	%
Kopf u.Hals	1	5,6%	13	72,2%	4	22,2%
obere Extr.	3	14,3%	17	81,o%	1	4,6%
Stamm	9	23,7%	23	6o,5%	6	15,8%
untere Extr.	1o	19,6%	36	7o,6%	5	9,8%

Prüfgröße $\chi^2 = 6,33$
Irrtumswahrscheinlichkeit p = o,39

GRAPHIK 5 IC-MITTELWERTE MIT VERTRAUENSBEREICHEN FÜR LOKALISATION



1 = KOPF UND HALS
2 = OBERE EXTR.
3 = STAMM
4 = UNTERE EXTR.

7.2.4.4 Histologische Tumortypen

Die Suche nach einer Korrelation zwischen den IC-Werten und der histologischen Typenklassifizierung zeigt keinen Zusammenhang auf. Nur bei dem bei Diagnosestellung bereits metastasiertem Tumor sind signifikant (p=o,o5) höhere Werte festzustellen.

globale Mittelwerte: (Graphik 6)

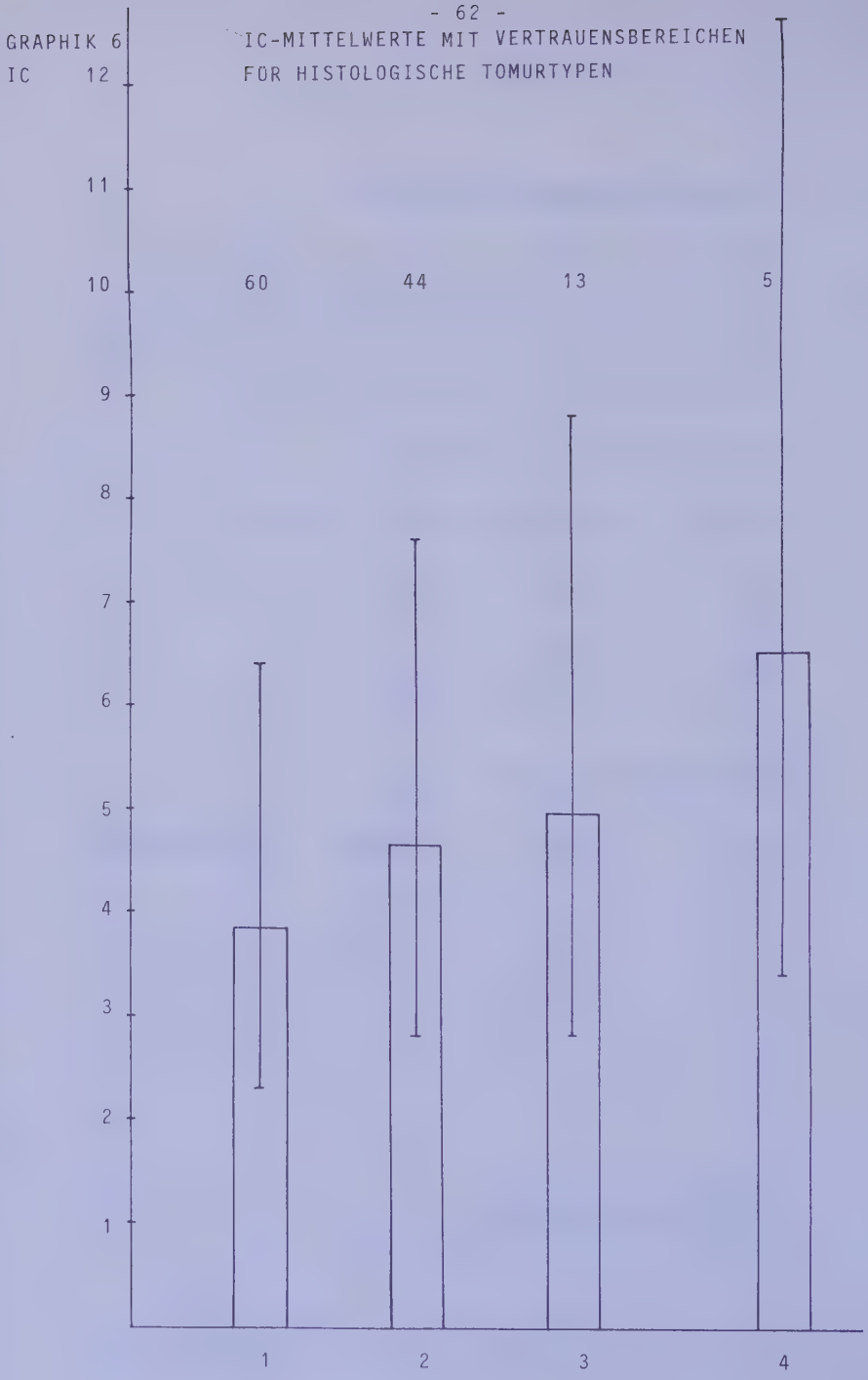
Tumortyp	n	geom.MW	Streuf.	Prüfgr. F	p
SSM	6o	3,85	1,65		
NM	44	4,65	1,64		
				2.7o8	o,o5
LMM	13	4,96	1,77		
metas.M.	5	6,5o	1,94		

Häufigkeitsverteilung:

Tumortyp	IC-normal		IC-erhöht		IC-max.-erhöht	
	n	%	n	%	n	%
SSM	15	25,o%	39	65,o%	6	1o,o%
NM	4	9,1%	35	79,5%	5	11,4%
LMM	2	15,4%	9	69,2%	2	15,4%
metas.M.	1	2o,o%	1	2o,o%	3	6o,o%

Prüfgröße χ^2 = 15,42
Irrtumswahrscheinlichkeit p = o,o5

GRAPHIK 6 IC-MITTELWERTE MIT VERTRAUENSBEREICHEN FÜR HISTOLOGISCHE TOMURTYPEN



1 = SSM
2 = NM
3 = LMM
4 = METAS. M.

7.2.4.5 Level nach Clark

Eine Aufschlüsselung der IC-Mittelwerte nach dem Level, weist nur bei Level V die höchsten IC auf.

globale Mittelwerte: (Graphik 7)

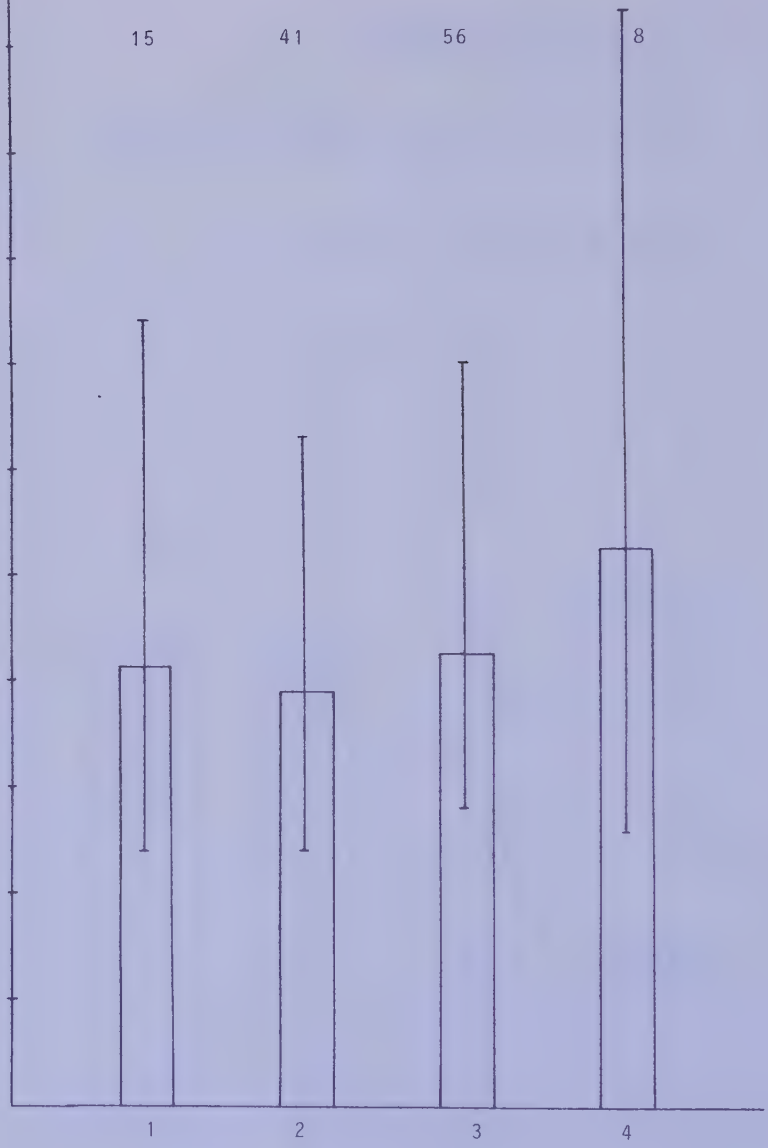
Level	n	geom.MW	Streuf.	Prüfgr. F	p
II	15	4,16	1,77		
III	41	3,92	1,61		
				o,951	o,42
IV	56	4,28	1,54		
V	8	5,27	2,o4		

Häufigkeitsverteilung

Level	IC-normal		IC-erhöht		IC-max-erhöht	
	n	%	n	%	n	%
II	2	13,3%	1o	66,7%	3	2o,o%
III	1o	24,4%	29	7o,7%	2	4,9%
IV	7	12,7%	43	78,2%	5	9,1%
V	1	11,1%	6	66,7%	2	22,2%

Prüfgröße $\chi^2 = 6,57$
Irrtumswahrscheinlichkeit p = o,36

GRAPHIK 7
IC-MITTELWERTE MIT VERTRAUENSBEREICHEN
FÜR LEVEL NACH CLARK



1 = II
2 = III
3 = IV
4 = V

7.2.4.6 Tumordicke

Wachsende Dicke des Tumors spiegelt sich nicht in den IC-Werten wider. Ensprechend dem höchsten IC-Mittelwert bei Level V findet sich bei Tumoren, die mehr als 4,5 mm dick sind, der höchste IC-Mittelwert, ohne signifikant zu sein.
Eine IC-Einteilung in normale, erhöhte und maximal erhöhte IC-Werte, wie aus der unteren Tabelle zu ersehen ist, liefert in jeder Dickeklasse fast identische prozentuale Einteilung des Patientenkollektivs.

globale Mittelwerte: (Graphik 8)

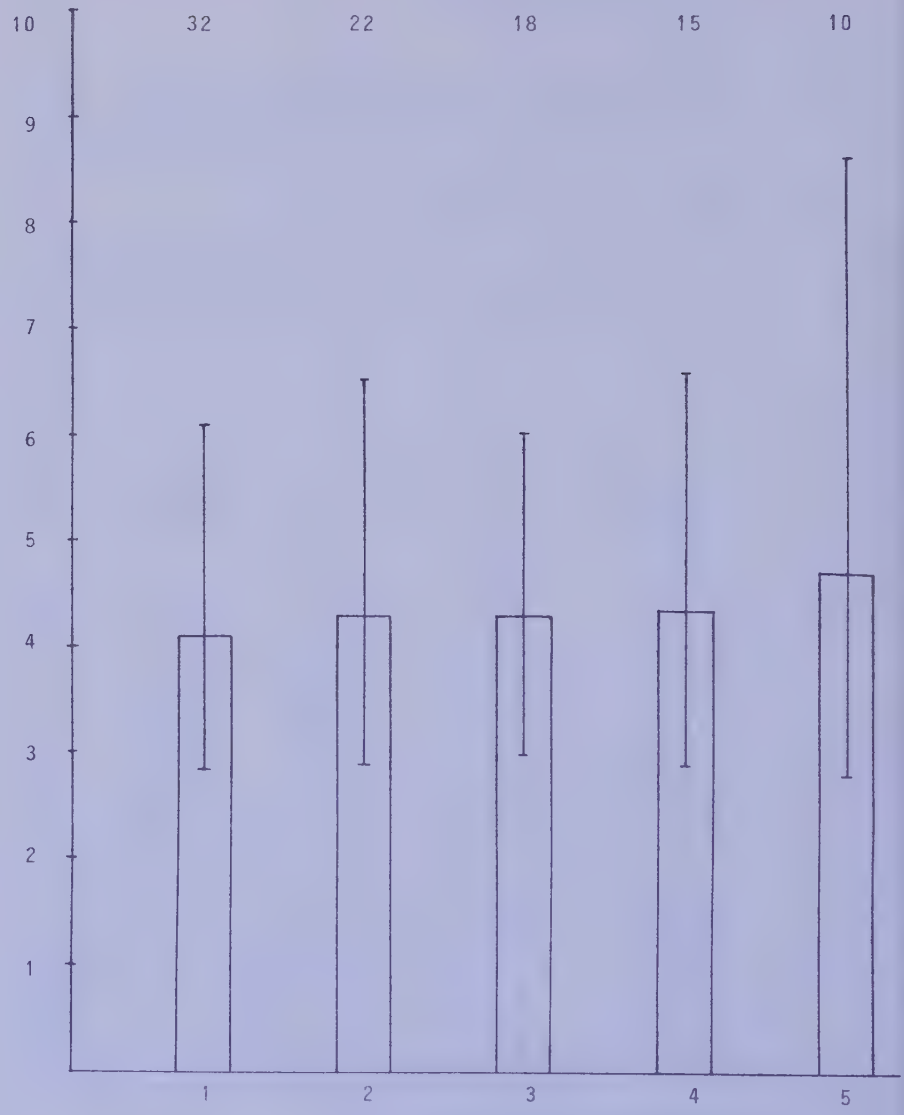
Dicke (mm)	n	geom.MW	Streuf.	Prüfgr. F	p
≤ o,75	32	4,12	1,47		
o,76-1,5	22	4,31	1,51		
				o,2o8	o,93
1.51-3.o	18	4,3o	1,41		
3,o1-4,5	15	4,37	1,52		
> 4,5	1o	4,7o	1,82		

Häufigkeitsverteilung

Dicke	IC-normal		IC-erhöht		IC-max-erhöht	
	n	%	n	%	n	%
≤ o,75	4	12,5%	26	81,3%	2	6,4%
o,76-1,5	3	13,6%	18	81,8%	1	4,5%
1,51-3,o	o		17	94,4%	2	5,6%
3,o1-4,5	2	13,3%	11	73,3%	1	13,3%
> 4,5	1	1o,o%	8	8o,o%	1	1o,o%

Prüfgröße χ^2 = 4,o6
Irrtumswahrscheinlichkeit p = o,85

GRAPHIK 8 IC-MITTELWERTE MIT VERTRAUENSBEREICHEN FÜR TUMORDICKE (mm)



1 ≤ 0,75
2 = 0,76 - 1,50
3 = 1,51 - 3,00
4 = 3,01 - 4,50
5 = > 4,50

7.2.4.7 Therapie

Die Therapie scheint einen Einfluß (nicht signifikant) auf die IC-Bildung auszuüben. Es zeigen sich in dem Patientenkollektiv mit BCG + DTIC Therapie die höchsten IC-Level.
Dieses Ergebnis ist allerdings in Abhängigkeit von der Indikationsstellung zu sehen. Eine kombinierte Chemoimmuntherapie wird nur bei Patienten mit besonders dicken, oder metastasierten Tumoren durchgeführt, die gleichzeitig, wie zuvor beschrieben, höhere IC-Werte haben.

globale Mittelwerte: (Graphik 9)

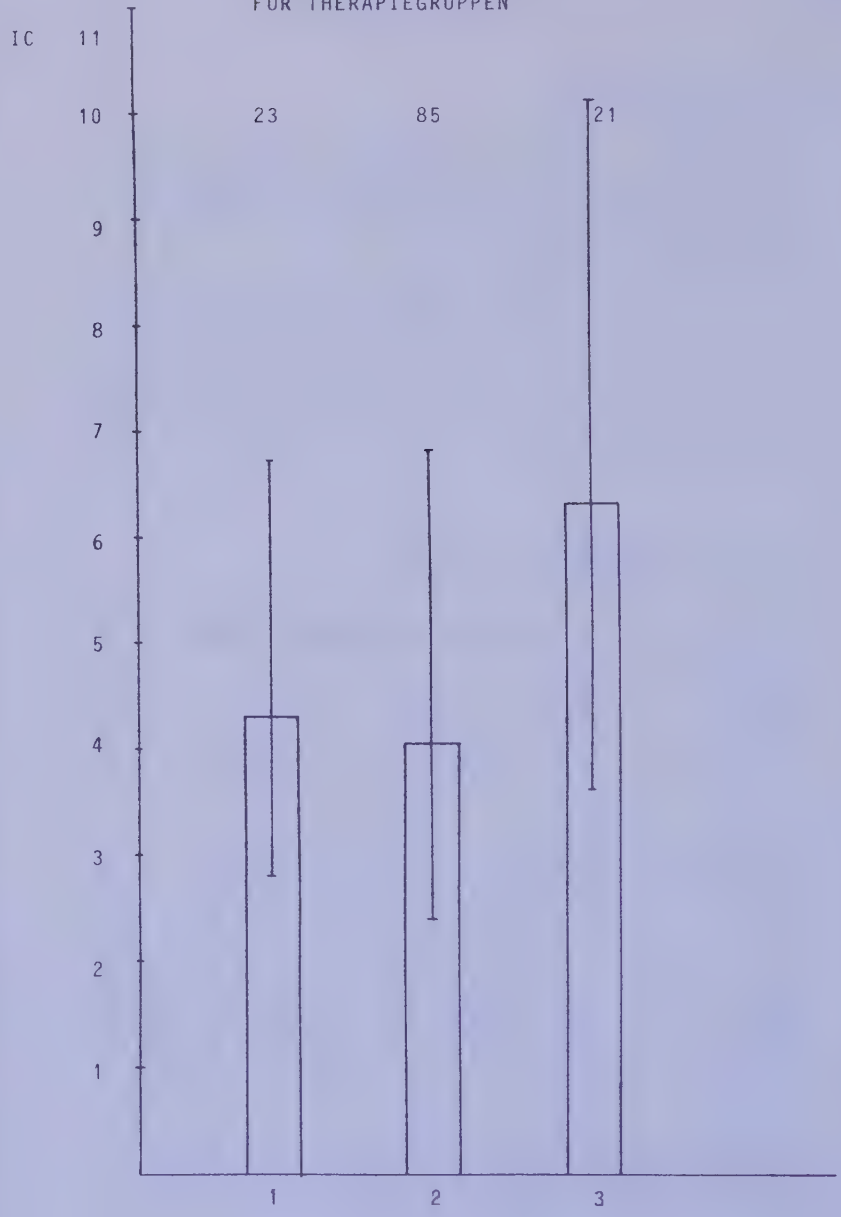
	n	geom.MW	Streuf.	Prüfgr. F	p
ohne Therapie	23	4,32	1,54		
BCG	85	4,o5	1,67		
				5,335	o,o6
BCG + DTIC	21	6,o3	1,67		

Häufigkeitsverteilung

Level	IC-normal		IC-erhöht		IC-max. erhöht	
	n	%	n	%	n	%
ohne Therapie	2	8,7%	19	82,6%	2	8,7%
BCG	19	22,4%	56	65,o%	1o	11,8%
BCG + DTIC	1	4,8%	15	71,42%	5	23,8%

Prüfgröße $\chi^2 = 7,22$
Irrtumswahrscheinlichkeit p = o,12

GRAPHIK 9 IC-MITTELWERTE MIT VERTRAUENSBEREICHEN FÜR THERAPIEGRUPPEN



1 = OHNE THERAPIE
2 = BCG
3 = BCG + DTIC

7.2.4.8 Metastasenentwicklung

Wie erwartet, findet man bei Patienten, die während des Krankheitsverlaufs Metastasen entwickeln, signifikant (p=o,o2) höhere IC-Werte als beim Patientenkollektiv ohne Metastasen. Diese Daten sind unabhängig vom Zeitintervall zwischen Blutabnahme und Metastasierung.

globale Mittelwerte: (Graphik 1o)

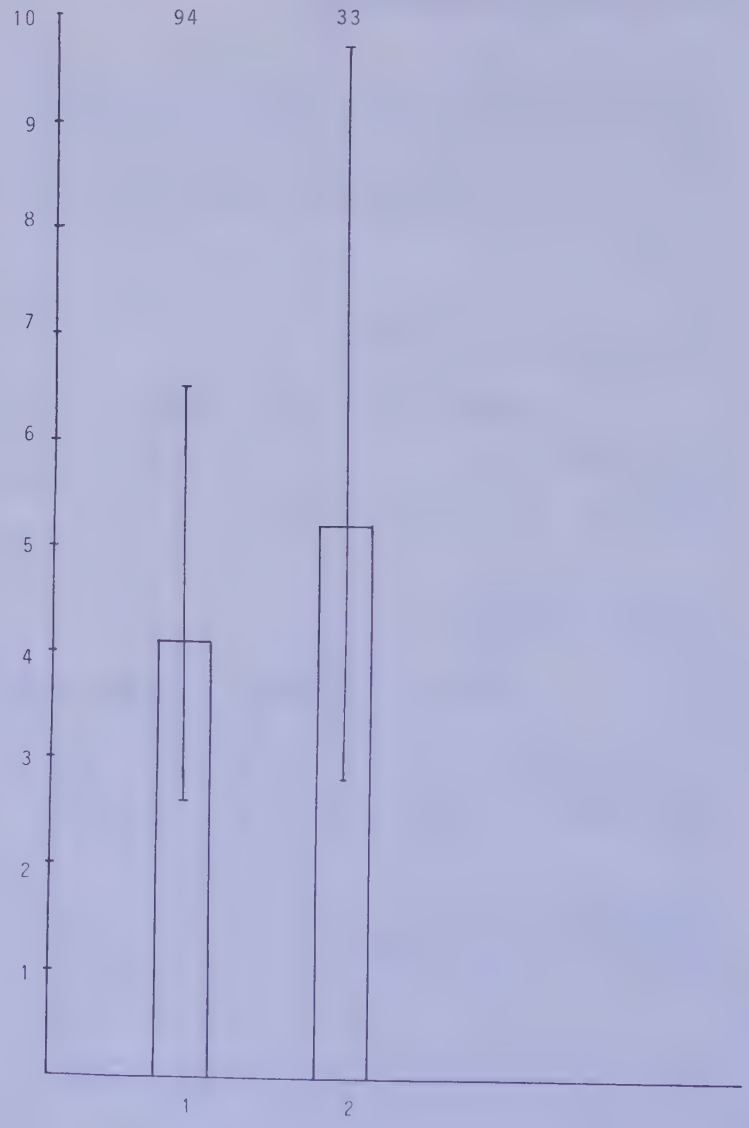
	n	geom. MW	Streuf.	Prüfgr. F	p
ohne Metastasen	94	4,o8	1,6o	5,39	o,o2
Metastasen	33	5,2o	1,86		

Häufigkeitsverteilung

	IC-normal		IC-erhöht		IC-max.-erhöht	
	n	%	n	%	n	%
ohne Metast.	16	17,o%	7o	74,5%	8	8,5%
Metastasen	5	15,2%	19	57,6%	9	27,3%

Prüfgröße $\chi^2 = 7,47$
Irrtumswahrscheinlichkeit p = o,o2

GRAPHIK 10 IC-MITTELWERTE MIT VERTRAUENSBEREICHEN FÜR METASTASENENTWICKLUNG



1 = OHNE METASTASEN
2 = METASTASEN

7.2.4.9 Zeitintervall zwischen IC-Messung und Operation

Vergleicht man die Höhe der IC in den unterschiedlichen Abnahmezeitpunkten nach der Operation, so scheint sich eine leichte Senkung der IC-Höhe mit zunehmendem Zeitabstand zur Operation abzuzeichnen. Bei 35,7% der Patienten, bei denen die IC-Messung später als 1 Jahr nach der Operation vorgenommen wurde, sind bereits normale IC-Werte zu finden.

globale Mittelwerte: (Graphik 11)

Intervall zwischen Operation und Blutentnahme:	n	geom.MW	Streuf.	Prüfgr.F	p
< 3 Monate	82	4,44	1,64		
3-12 Monate	2o	4,19	1,58		
				o,699	o,5
> 12 Monate	28	3,88	1,91		

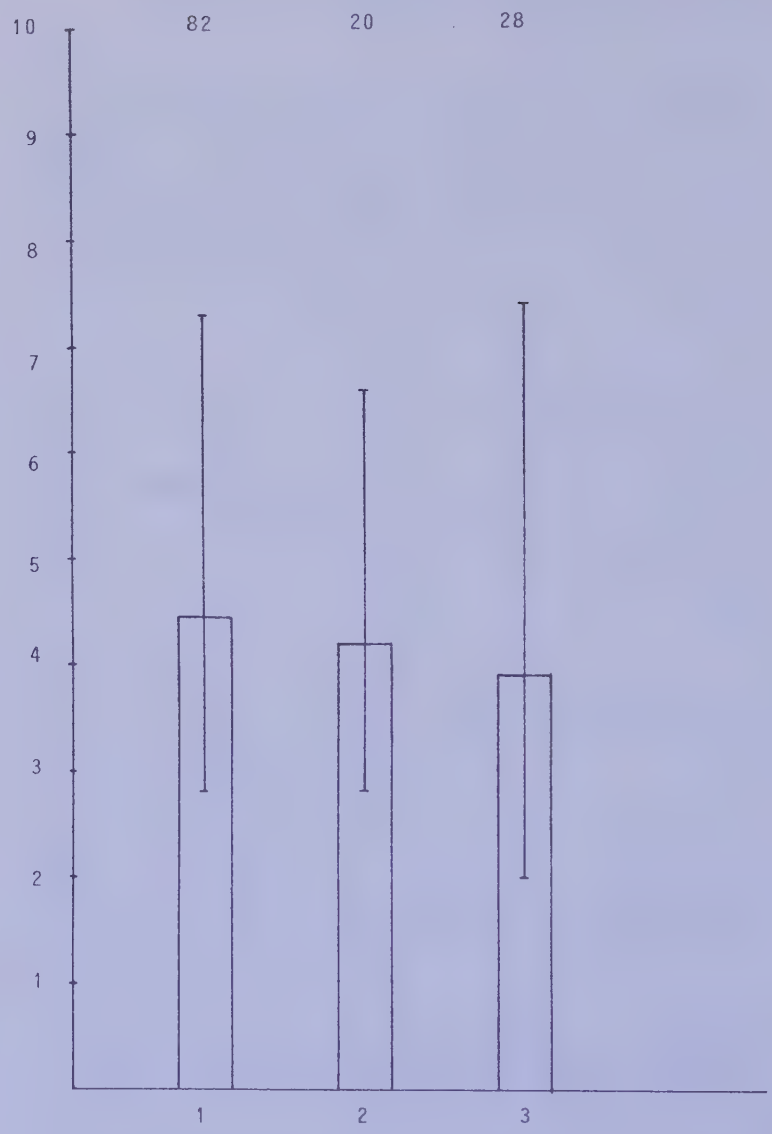
Häufigkeitsverteilung

	IC < 2,5		IC 2,5-7,5		IC > 7,5	
	n	%	n	%	n	%
< 3 Monate	11	13,4%	61	74,4%	1o	12,2%
3-12 Monate	3	15,o%	15	75,o%	2	1o,o%
> 12 Monate	1o	35,7%	13	46,4%	5	17,9%

Prüfgröße $\chi^2 = 8,99$

Irrtumswahrscheinlichkeit p = o,o6

GRAPHIK 11 IC-MITTELWERTE MIT VERTRAUENSBEREICHEN FÜR ZEITINTERVALLE ZWISCHEN IC-MESSUNG UND OPERATION



1 = < 3 MONATE
2 = 3-12 MONATE
3 = > 12 MONATE

7.2.4.10 Beobachtungsdauer

Eine Einteilung des Patientenkollektivs nach der Beobachtungsdauer zeigt eine ähnliche Tendenz der IC-Höhe, wie bei den zuvor beschriebenen Zeitintervallen. Patienten, die länger als 5 Jahre beobachtet worden sind, zeigen niedrigere IC-Werte auf als Patienten, die innerhalb des ersten Jahres aus der Studie (aus unterschiedlichen Gründen) ausgeschieden sind, ohne signifikant zu sein (p=o,26).

globale Mittelwerte: (Graphik 12)

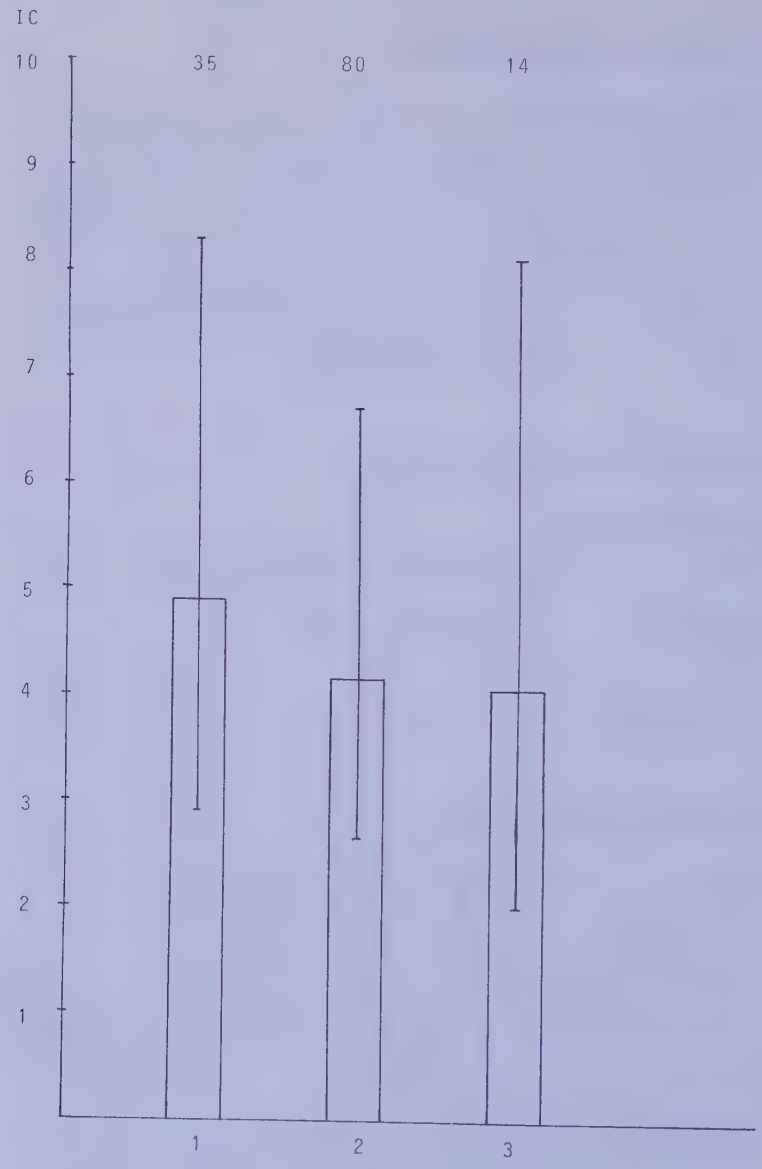
Beobachtungsdauer	n	geom.MW	Streuf.	Prüfgr.F	p
< 1 Jahr	35	4,89	1,69		
1-5 Jahre	8o	4,17	1,61		
				1,33	o,26
> 5 Jahre	14	4,o3	2,o		

Häufigkeitsverteilung

	IC 2,5		IC 2,5-7,5		IC 7,5	
	n	%	n	%	n	%
< 1 Jahr	3	8,6%	25	71,4%	7	2o,o%
1-5 Jahre	13	16,3%	6o	75,o%	7	8,8%
> 5 Jahre	6	42,9%	5	35,7%	3	21,4%

Prüfgröße $\chi^2 = 12,78$
Irrtumswahrscheinlichkeit p = o,o1

GRAPHIK 12 IC-MITTELWERTE MIT VERTRAUENSBEREICHEN FÜR BEOBACHTUNGSDAUER



1 = < 1 JAHR
2 = 1-5 JAHRE
3 = > 5 JAHRE

7.2.4.11 Status am Ende der Beobachtung

Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen der IC-Höhe der in Folge der Disseminierung des mM Verstorbenen und der am Ende der Beobachtung Lebenden (p=o,o5).

globale Mittelwerte: (Graphik 13)

Status	n	geom.MW	Streuf.	Prüfgr. F	p
tot	14	5,7o	2,oo		
lebend	69	4,25	1,55	4,19	o,o4

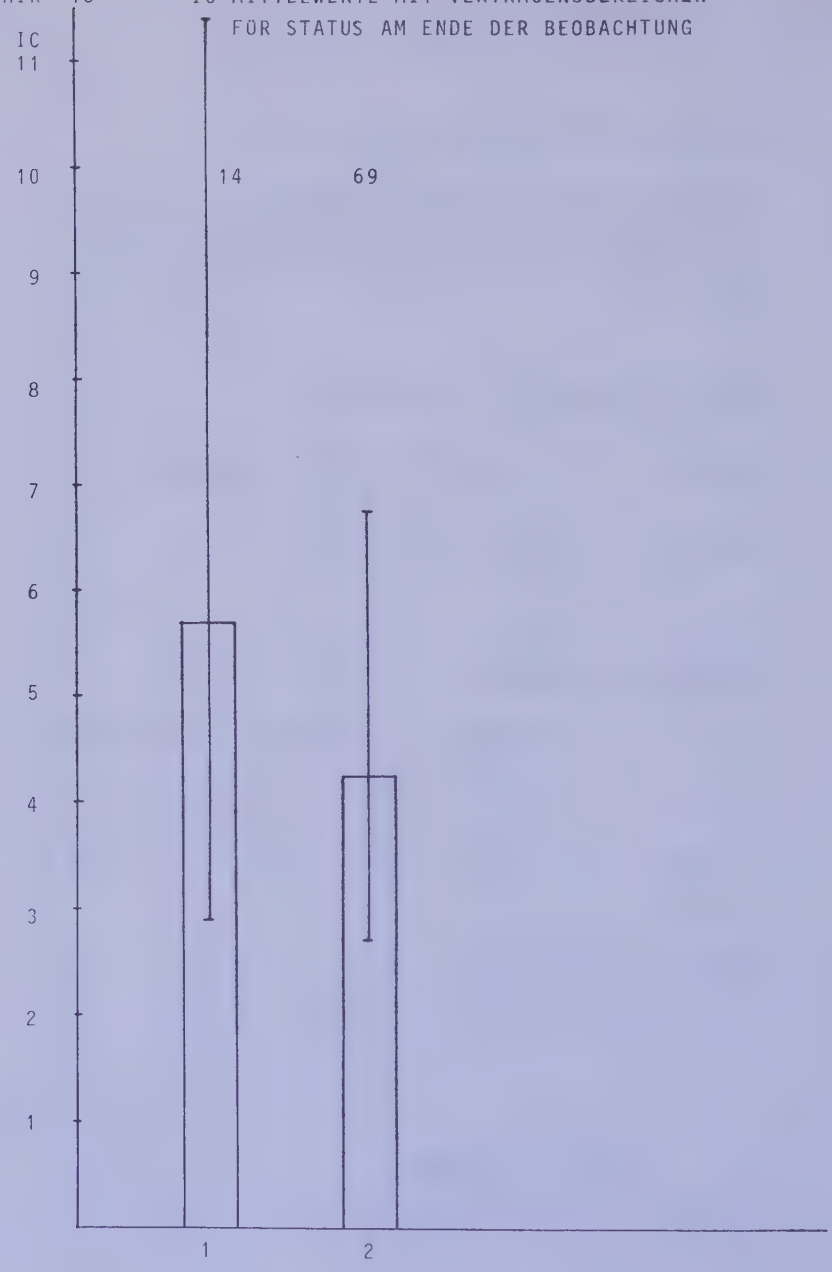
Häufigkeitsverteilung

	IC normal		IC erhöht		IC max.-erhöht	
	n^+	$\%^{++}$	n	%	n	%
tot	3	21,4%	6	42,9%	5	35,7%
lebend	9	13,o%	55	79,7%	5	7,2%

Prüfgröße χ^2 = 1o,55
Irrtumswahrscheinlichkeit p = o,oo5

n^+ = absolute Häufigkeit
$\%^{++}$ = relative Häufigkeit

GRAPHIK 13 IC-MITTELWERTE MIT VERTRAUENSBEREICHEN FÜR STATUS AM ENDE DER BEOBACHTUNG



1 = TOT
2 = LEBEND

7.3.5 Einfluß der zirkulierenden Immunkomplexe auf die Überlebensrate

Um die Rolle der zirkulierenden Immunkomplexe bei der Bestimmung der Prognose der Melanompatienten zu überprüfen, wurde in einem logistischen Regressionsmodell geprüft, welchen Einfluß die Höhe der zirkulierenden Immunkomplexe auf die Überlebensrate ausübt. Diese Effekte sind nicht sehr gut schätzbar, weil nur wenige Patienten verstorben sind und deshalb keine stark differenzierten Sterbetafeln vorliegen.

a) Ohne Berücksichtigung weiterer Einflußfaktoren ist der Einfluß der Immunkomplexe im Serum auf die Überlebensrate (logarithmische Daten) statistisch signifikant dahingehend, daß höhere IC-Werte mit einer erniedrigten Überlebensrate verbunden sind:

Regressionskoeffizient	Regr.-Koeff./ Standardfehler	p=Irrtumswahrscheinlichkeit
2,41	2,21	o,o2

b) Bei einer weiteren Berücksichtigung des Geschlechts bleibt der Einfluß der Immunkomplexe im Serum auf die Überlebensrate signifikant; hier derart, daß Frauen gegenüber Männern eine größere Überlebensrate aufweisen.

	Regressionskoeffizient	Regr.-Koeff./ Standardfehler	p=Irrtumswahrscheinlichkeit
Männer	2,94	2,48	o,o1
Frauen	- 1,12	- 1,94	

7.4 Prognosebestimmung der Melanompatienten anhand histologischer Daten (Level und Tumordicke) und der zirkulierenden Immunkomplexe im Serum

Die üblicherweise verwendeten histologischen Daten, die die Prognose des Melanompatienten entscheidend beeinflussen, sind Level nach Clark und die absolute Tumordicke.
Überprüft man den Einfluß dieser beiden Faktoren auf die Überlebensrate mit Hilfe von dem gleichen logistischen Regressionsmodell, wie zuvor für die IC-Werte berechnet, erhält man folgendes Ergebnis:

1. Für die Einflußvariable "Level nach Clark":
2. Für die Einflußvariable "Tumordicke":

	Regressions-koeffizient	Regr.Koeff./ Standardfehler	p-Irrtumswahrscheinlichkeit
1.Level	1,26	o,44	o,oo25
2.Tumor-dicke	1,o2	o,4o	o,oo24

Die Hinzunahme der IC-Werte zu der Information "Level" bzw. "Dicke" ergibt eine bessere logistische Regression für die Überlebenswahrscheinlichkeit, d.h. einen größeren Informationsgewinn für die Prognosebestimmung des Melanompatienten:

	p (global)		p (global)
Level	o,oo25	Level + IC	o,ooo6
Dicke	o,oo24	Dicke + IC	o,oo13

Dieses Ergebnis führt zu der Forderung, die Prognose des Melanompatienten nicht allein aufgrund der histo-pathologischen Klassifikation des mM zu beurteilen, sondern gleichzeitig unter Zuhilfenahme der Messung der zirkulierenden Immunkomplexe, den Immunstatus in die Prognosebestimmung einzubeziehen.

8. DISKUSSION

Die Bildung von Immunkomplexen stellt ein physiologisches Phänomen dar, das fast alle Immunantworten begleitet und zunächst ohne pathologische Bedeutung ist. Pathognomonisch wird die IC-Bildung erst dann, wenn folgende Kriterien erfüllt sind:

a. langandauernde - und hohe Antigenzufuhr - endogenen und exogenen Ursprungs.
b. Überproduktion von Antikörpern mit geringer Affinität.
c. Störung bzw. Versagen des Zerfallmechanismus der Ag-Ak-Komplexe oder Störung bzw. Versagen der Entfernung derselben aus dem Organismus.

Da ein maligner Tumor die Eigenschaft besitzt (siehe a.) als ständige Antigenquelle zu fungieren, ist die Rolle der sich während des Tumorwachstums bildenden IC von Bedeutung.

Die Eigenschaft der IC, nicht nur in den Ablauf der Immunreaktion einzugreifen, sondern auch mit einer Reihe von Zellen (Leukozyten, Thrombozyten, Erythrozyten, Gefäßendothelzellen ...) und dem Komplementsystem in Interaktion zu treten, bestimmt die Vielfalt ihrer Auswirkungen.
Auf dem Gebiet der Tumorimmunologie ist das wachsende Interesse für die IC während eines malignen Wachstums insbesondere durch folgende Merkmale zu erklären:

a. die Existenz der IC bestätigt eine Immunantwort.

b. IC blockieren den Mechanismus der zellulären Immunantwort.
c. die IC-Quantität hat einen Einfluß auf die Prognose des Patienten.
d. die Entfernung der IC aus dem Körperkreislauf kann die Tumorabwehr günstig beeinflussen (Bansal 1978).

Es ist hervorzuheben, daß die Spezifität der in der vorliegenden Arbeit gemessenen IC der Melanompatienten nicht bekannt ist. Es handelt sich vermutlich nicht nur um IC aus TAA und Antikörpern, sondern auch um IC mit normalen Antigenen (aus nekrotischem Zellmaterial, durch Chemotherapie ausgelösten Zelluntergang, IC bei Infekten, IC aus Anti-Antikörpern u.a.).

Auch wenn noch keine Klarheit über die Ag-Ak-Spezifität der Tumorpatienten besteht, läßt sich aus den vorliegenden Ergebnissen schließen, daß im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne malignes Wachstum, die IC-Level von Melanompatienten signifikant höher sind und mit dem Tumorwachstum im Zusammenhang stehen.

Die Suche nach einer Korrelation der IC-Höhe mit den klinischen und histologischen Parametern führte nicht zur Klärung der Abhängigkeit der IC-Bildung, außer in einem Punkt: der Metastasenbildung. Eine Disseminierung als Ausdruck eines unkontrollierten Wachstums führt zur Bildung größerer Tumormassen, die sich in der IC-Höhe widerspiegelt. Die Vermutung, daß die IC-Level in Abhängigkeit von den Tumormassen sind, ließ sich leider nicht weiter verfolgen, da die histologischen Angaben dieses Patientenkollektivs zwar häufig die absolute Tumordicke, nicht aber das Tumorvolumen beinhalten.

Der Vergleich der IC-Werte bei beiden Geschlechtern zeigt einen höheren MW bei Frauen als bei Männern. Da bei Männern häufiger Metastasen und Todesfälle auftreten, die als solche mit höheren IC-Werten vergesellschaftet sind, ist dies überraschend. Eine Erklärung für dieses Phänomen könnte die Arbeit von Batchelor (1965) liefern, in der gezeigt wurde, daß beim weiblichen Geschlecht eine höhere Antikörperproduktion gegen Tumore gefunden wird.

Interessant ist der Vergleich der drei Therapiegruppen (Operation, Operation + BCG, Operation/+BCG + DTIC). In der Gruppe mit kombinierter Chemoimmuntherapie sind deutlich höhere IC-Werte zu finden. Wie von mehreren Autoren (El-Domeiri 1977, McKhann 1975) berichtet wird, ist die Anwendung von BCG bei metastasierten Tumoren wegen der Aggravation der Symptome sogar mit Todesfolgen bzw. bei Tumoren mit lokalisiertem Wachstum wegen mangelndem positivem Einfluß auf die Prognose nicht zu empfehlen.

Die hier bei der IC-Messung gewonnenen Ergebnisse könnten dies bestätigen, insbesondere in Übereinstimmung mit anderen Autoren (Nathanson, 1978) dahingehend, daß noch weitere Studien notwendig sind, um den Effekt der BCG-Therapie als eindeutig positiv zu bezeichnen.

Die Suche nach weiteren Einflußfaktoren auf die IC-Bildung führte zu keinen eindeutigen Ergebnissen. Eine Auflistung des Patientenkollektivs, in der die Kriterien in Zusammenhang gebracht würden (z.B. Alter und Lokalisation, Therapie und Metastasenhäufigkeit) führte zu einer Aufsplitterung in zu kleine Gruppen, anhand derer statistische Auswertungen nicht mehr möglich gewesen wären.

Die klinische Relevanz der ausgeführten Ergebnisse der IC-Messungen bei Melanompatienten liegt in ihrer Bedeutung für die Überlebensrate. Ähnlich haben auch andere Autoren bei mM (Jerry 1976, Kristensen 198o), bei Leukämie (Carpentier 1977, 1982), M. Hodgkin (Amlot 1976) malignen Lymphomen (Heier 1977), Mamma Ca (Höffken 1978), Colon-Ca (Stelle 1978) die IC-Quantität in Zusammenhang zur Zeitspanne bis zum Eintritt von Rezidiven und/oder Metastasen bzw. Tod des Patienten gesehen.

Es konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, daß der Immunstatus des Patienten, der abhängig vom Tumorwachstum sich in der Komplexbildung ausdrückt, ein wichtiger Faktor für die Prognosebestimmung ist.

Durch das Heranziehen der IC-Angaben für die Berechnung der Überlebenswahrscheinlichkeit, konnten hochsignifikante Werte erreicht werden: für die Tumordicke und IC $p = o,ool3$ und für Level und IC $p = o,ooo6$.
Die aus dieser Untersuchung des Einflusses der IC auf die Überlebensrate entstandene Forderung, d.h. bei der Prognosebestimmung des mM die IC-Messung hinzuzunehmen, läßt sich sehr einfach verwirklichen, da nur venöses Blut als Material ausreicht und somit der Patient nicht zusätzlich belastet wird. Die hier angewandte Methode des Raji-RIA läßt sich relativ einfach durchführen.

Eine klinisch noch inapparente Disseminierung des Tumors könnte durch regelmäßige IC-Messungen vorhergesagt werden. Um einen evtl. IC-Anstieg interpretieren zu können, sind natürlich Verlaufsstudien notwendig, die bei dieser Arbeit nicht durchgeführt werden konnten.

Der nächste Schritt, um die Komplexbildung therapeutisch nutzen zu können, wäre die Antigen- und Antikörper-Bestandteile der IC zu charakterisieren, um einen Einfluß auf ihre Entstehung oder Entfernung aus dem Organismus zu gewinnen.

9. ZUSAMMENFASSUNG

Das mM der Haut ist ein immunogener Tumor, dessen Antigene wegen ihres polymorphen Charakters nur teilweise bekannt sind.
Die Immunantwort, aus der die Bildung von Ag-Ak-Komplexen resultiert, ist für den Melanompatienten von entscheidender Bedeutung.

In der vorliegenden Arbeit wurden bei 132 mM-Patienten und bei 9o Kontrollpersonen ohne maligne Erkrankung mit Hilfe des Raji-RIA Immunkomplexe im Serum gemessen. Es konnte gezeigt werden, daß die Ag-Ak-Komplexe bei Melanompatienten signifikant höhere Werte zeigen als bei der Kontrollgruppe. ($p < o,ool$).

Das wesentliche Ergebnis dieser Untersuchung liegt in dem Nachweis, daß ein Zusammenhang zwischen der IC-Höhe und der Metastasierung des mM besteht; d.h. aus der IC-Messung könnte auf eine klinisch noch inapparente Metastasierung geschlossen werden. Durch die Berücksichtigung der IC-Höhe in der Prognosebestimmung der Melanompatienten können hochsignifikante Aussagen für die Überlebenswahrscheinlichkeit gemacht werden. ($p=o,ooo6$).

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

mM	= malignes Melanom
CEA	= karzinoembryonales Antigen
OFA	= onkofetale Antigene
TAA	= tumorassoziiertes Antigen
MAA	= melanomassoziiertes Antigen
ADCC	= antibody dependent cell mediated cytotoxicity
Ag-Ak-Konplexe	= Antigen-Antikörper-Komplexe
IC	= Immunkomplexe
Raji-RIA	= Raji-Zell-Radioimmunassay
PBS	= phosphate buffered saline
RHS	= Retikulo-histiozytäres System
MHC	= Major Histocompatibility Complex

10. LITERATURVERZEICHNIS

1) Abelev, G.I.
Production of embryonal serum α-globulin by hepatomas: Review of experimental and clinical data
Cancer Res. 28, 1344-1350, 1968

2) Amlot, P.L., Slaney, J.M., Williams, B.D.
Circulating immune complexes and symptoms in Hodgkin's disease
Lancet 1, 449-451, 1976

3) Ando, K., Hunter, N., Peters, L.J.
Immunologically nonspecific enhancement of artificial lung metastases in tumor-bearing mice
Cancer Immunol. Immunother. 6, 151-156, 1979

4) Aranha, G.V., McKhann, C.F., Simmons, R.L. et al.
Recall skin-test antigens and the prognosis of stage I melanoma
J. Surg. Oncol. 11, 13-16, 1979

5) Avis, P., Lewis, M.G.
Brief communication: tumor associated fetal antigens in human tumors
J. Natl. Cancer Inst. 51, 1063-1066, 1973

6) Baldwin, R.W., Price, M.R., Robins, R.A.
Blocking of lymphcyte-mediated cytotoxicity for rat hepatoma cell by tumor-specific antigen-antibody complexes
Nature New Biology 238, 185-186, 1972

7) Baldwin, R.W., Robins, R.A.
Humoral factors abrogating cell- mediated immunity in the tumor-bearing host
Curr. Top. Microbiol. Immunol. 72, 21-53, 1975

8) Baldwin, R.W., Robins, R.A.
Factors interfering with immunological rejection of tumors
Br. Med. Bull. 32, 118-123, 1976

9) Bansal, S.C., Bansal, B.R., Boland, J.P.
Blocking and unblocking serum factors in neoplasia
Curr. Top. Microbiol. Immunol. 75, 45-76, 1976

10) Bansal, S.C., Bansal, B.R., Thomas, H.L. et al.
Ex vivo removal of serum IgG in a patient with colorectal carcinoma
Cancer 42, 1-18, 1978

11) Barton, Ch., Vaziri, N.D., Spear, G.S.
Nephrotic syndrome associated with adenocarcinoma of the breast
Am. J. Med. 68, 308-312, 1980

12) Batchelor, J.R., Chapman, B.A.
The influence of sex upon the antibody response to an incompatible tumor
Immunology 9, 553-564, 1965

13) Breslow, A.
Prognostic factors in the treatment of cutaneous melanoma
J. Coutan. Pathol. 6, 208-212, 1979

14) Brown, J.P., Wright, P.W., Woodbury, R.G. et al.
Protein Antigens of normal and malignant human cells identified by immunoprecipitation with monoclonal antibodies
The Journal of Biological Chemistry 255, 4980-4983, 1980

15) Brüggen, J., Sorg, C., Macher, E.
Membrane associated antigens of human malignant melanoma V: serological typing of cell lines using antisera from nonhuman primates
Cancer Immunol. Immunother. 5, 53-62, 1978

16) Bucana, C., Hanna, M.G.
Immunoelectronmicroscopic analyses of surface antigens common to mycobacterium bovis (BCG) and tumor cells
J. Natl. Cancer Inst. 53, 1313-1323, 1974

17) Bukowski, R.M., Barna, B., Deodhar, S.D. et al.
Nonspecific lymphocyte cytotoxicity in patients with malignant melanoma, renal cell carcinoma, and sarcomas, and in nontumor patients
Cancer 38, 1962-1967, 1976

18) Bertrams, J., Rittner, Ch.
Der HLA-Komplex
Dtsch. Med. Wschr. 106, 952-958, 1981

19) Biran, H., Mavligit, G.M., Moake, J.L.
Receptor sites for complement and for immune complexes on human nonhemopoietic tumor cells
Cancer 44, 131-135, 1979

20) Bluming, A.Z., Vogel, C.L., Ziegler, J.L. et al.
Delayed cutaneous sensitivity reactions to extracts of autologous malignant melanoma: a second look
J. Natl. Cancer Inst. 48, 17-24, 1972

21) Bodenham, D.C.
A study of 650 observed malignant melanomas in the south-west region
Ann. Roy. Coll. Surg. Engl. 43, 218-240, 1968

22) Bodurtha, A.J., Chee, D.O., Laucius, J.F.
Clinical and immunological significance of human melanoma cytotoxic antibody
Cancer Res. 35, 189-193, 1975

23) Burg, G., Braun-Falco, O.
The cellular stromal reaction in malignant melanoma. A cytochemical investigation
Arch. Derm. Forsch 245, 318-324, 1972

24) Burnet, F.M.
Immunological surveillance in neoplasia
Transplant. Rev. 7, 3-25, 1971

25) Bystryn, J.C.
Antibody response and tumor growth in syngeneic mice immunized to partially purified B16 melanoma-associated antigens
J. Immunol. 120, 96-101, 1978

26) Carpantier, N.A., Lange, G.T., Fiere, D.M. et al.
Clinical relevance of circulating immune complexes in human leukemia
J. clin. Invest. 60, 874-884, 1977

27) Carpentier, N.A., Fiere, D.M., Schuh, D. et al.
Circulating immune complexes and the prognosis of acute myeloid leukemia
The New England J. of Medicine 307, 1174-1180, 1982

28) Carrel, S., Theikaes, L.
Evidence for a tumor-associated antigen in human malignant melanoma
Nature 242, 609-610, 1973

29) Carrel, S., Dent, P.B., Liao, S.-K.
Demonstration of the specifity of a monkey antiserum against human malignant melanoma
Cancer Immunol. Immunother. 8, 197-203, 1980a

30) Carrel, S., Accolla, R.S., Carmagnola, A.L. et al.
Common human melanoma-associated antigen(s) detected by monoclonal antibodies
Cancer Res. 40, 2523-2528, 1980b

31) Clark, W.H., From, L, Bernardino, E.A. et al.
The histogenesis and biologic behaviour of primary human malignant melanomas of the skin
Cancer Res. 29, 705-729, 1969

32) Constanza, M.E., Pinn, F., Schwartz, R.S. et al
Carcinoembryonic antigen-antibody-complexes in patients with colonic carcinoma and nephrotic syndrome
N. Engl. J. Med. 289, 520-522, 1973

33) Couser, W.G., Wagonfeld, J.B., Spargo, B.H. et al.
Glomerular deposition of tumor antigen in membranous nephropathy associated with colonic carcinoma
Am. J. Med. 57, 962-970, 1974

34) Currie, G.A.
Effect of active immunization with irradiated tumor cells on specific serum inhibitors of cell-mediated immunity in patients with disseminated cancer
Brit. J. Cancer 28, 25-35, 1973

35) De Vries, J.E., Rümke, Ph., Bernheim, J.L.
Cytotoxic lymphocytes in melanoma patients
Int. J. Cancer 9, 567-576, 1972

36) De Vries, J.E., Cornain, S., Rümke, Ph.
Cytotoxicity of non T-versus T-lymphocytes from melanoma patients and healthy donors on short and long term cultured melanoma cells
Int. J. Cancer 14, 427-434, 1974

37) De Vries, J.E., Meyering, M., Van Dongen, A. et al.
The influence of different isolation procedures and the use of target cells from melanoma cell lines and short term cultures on the nonspecific cytotoxic effects of lymphocytes from healthy donors
Int. J. Cancer 15, 391-400, 1975

38) Dionigi, R., Domonioni, L., Gnes, F. et al.
Sequential evaluation of immunoreactivity in patients with melanoma undergoing surgery and adjuvant therapy
Tumori 66, 59-76, 1980

39) El-Domeiri, A.A., Nika, B., Hsia, W.C. et al.
Effectiveness of systemic BCG therapy in advanced melanoma
Arch. Surg. 112, 257-259, 1977

40) Everson, T.C.
Spontaneous regression of cancer
Ann. N. Y. Acad. Sci. 114, 721-735, 1964

41) Eremin, O., Coombs, R.R.A., Plumb, D. et al.
Characterization of the human natural killer (NK) cell in blood and lymphoid organs
Int. J. Cancer 21, 42-50, 1978

42) Ferrone, S., Pellegrino, M.A.
Cytotoxic antibodies to cultured melanoma cells in the sera of melanoma patients
J. Natl. Cancer Inst. 58, 1201-1204, 1977

43) Flexner, S., Jobling, W.
Restraint and promotion of tumor growth
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 5, 16-18, 1907

44) Fraumeni, J.F., Hoover, R.
Immunosurveillance in cancer: epidemiologic observations
NCI Monograph 47, 121-126, 1975
Us Departement of Health Education, and Welfare
Washington, D.C.

45) Götz, H.
Tumorimmunologie
in: Vorländer, H.-O.
Praxis der Immunologie 504-526
Thieme Verlag, 1976

46) Gold, P., Freedman, S.O.
Specific carcino-embryonic antigens of the human digestive system
J. Exp. Med. 122, 467-481, 1965

47) Gupta, R.K., Irie, R.F., Chee, D.O. et al.
Demonstration of two distinct antigens in spent tissue culture medium of a human malignant melanoma cell line
J. Natl. Cancer Inst. 63, 347-356, 1979a

48) Gupta, R.K., Silver, H.K.B., Reisfeld, R.A. et al.
Isolation and immunochemical characterization of antibodies from the sera of cancer patients which are reactive against human melanoma cell membranes by affinity chromatography
Cancer Res. 39, 1683-1695, 1979b

49) Gupta, R.K., Theofilopoulos, A.N., Dixon, F.J. et al.
Circulating immune complexes as possible cause for anticomplementary activity in humans with malignant melanoma
Cancer Immunol. Immunother. 6, 211-221, 1979c

50) Haakenstad, A.O., Mannik, M.
The biology of immune complexes
aus: Talal, N. (Ed.):
Autoimmunity, New York
Academic Press, 278-360, 1977

51) Heier, H.E., Carpentier, N., Lange, G. et al.
Circulating immune complexes in patients with malignant lymphomas and solid tumors
Int. J. Cancer 20, 887-894, 1977

52) Hellström, I., Sjögren, H.O., Warner, G. et al.
Blocking of cell-mediated tumor immunity by sera from patients with growing neoplasms
Int. J. Cancer 7, 226-237, 1971

53) Hellström, I., Warner, G.A., Hellström, K.E. et al.
Sequential studies on cell-mediated tumor immunity and blocking serum activity in ten patients with malignant melanoma
Int. J. Cancer 11, 280-292, 1973a

54) Hellström, I., Hellström, K.E.
Some recent studies on cellular immunity to human melanomas
Federation Proc. 32, No. 2, 157-159, 1973b

55) Hellström, K.E., Hellström, I.
Lymphocyte-mediated cytotoxitity and blocking serum activity to tumor antigens
Advances in Immunology 18, 209-277, 1974

56) Herberman, R.B.
Immunoregulation and nature killer cells
Molecular Immunology 19, No. 10, 1313-1321, 1982

57) Hersey, P., Murray, E., Ruygrok, S. et al.
Blocking factors against melanoma
Leucocyte dependent antibody: relationship to disease activity in melanoma patients
Aust. N. Z. J. Surg. 48, 26-32, 1978a

58) Hersey, P., Edwards, A., Milton, G.W. et al.
Relationship of cell-mediated cytotoxicity against melanoma cells to prognosis in melanoma patients
Br. J. Cancer 37, 505-513, 1978b

59) Höffken, K., Merdith, I.D., Robins, R.A. et al.
Circulating immune complexes in patients with breast cancer
Brit. Med. J. 2, 218-220, 1977

60) Höffken, K., Meredith, I.D., Robins, R.A. et al.
Immune complexes and prognosis of human breast cancer
Lancet 1, 672, 1978

61) Hollinshead, A.C.
Analysis of soluble melanoma cell membrane antigens in metastatic cells of various organs and further studies of antigens present in primary melanoma
Cancer 36, 1282-1288, 1975

62) Hornstein, O.P., Weidner, F.
Untersuchungen zur prognostischen Bedeutung der Stromareaktion beim malignen Melanom
Virchows Arch. Abt. A. Path. Anst. 359, 67-76, 1973

63) Houghton, A.N., Oettgen, H.F., Old, L.J.
Malignant melanoma
Current status of the search for melanoma-spacific antigens
aus: Safai, B., Good, R.A.:
Comprehensive
Immunology 7, Immunodermatology, 1981

64) Irie, R.F., Irie, K., Morton, D.L.
A membrane antigen common to human cancer and fetal brain tissues
Cancer Res. 36, 3510-3517, 1976

65) Jerry, L.M., Rowden, G., Cano, P.O. et al.
Immune complexes in human melanoma: a consequence of deranged immune regulation
Scand. J. Immunol. 5, 845-859, 1976

66) Jose, D.G., Seshadri, R.
Circulating immune complexes in human neuroblastoma: direct assay and role in blocking specific cellular immunity
Int. J. Cancer 13, 824-838, 1974

67) Kay, H.D., Fagnani, R., Bonnard, G.D.
Cytotoxicity against the K562 erythroleukemia cell line by human natural killer cells (NK), which do not bear free Fc receptor for IgG
Int. J. Cancer 24, 141-150, 1979a

68) Kay, N.E., Ackerman, S.K., Douglas, S.D.
Anatomy of the immune system
Seminars in Hematology 16, 252-283, 1979b

69) Kim, U., Bauler, A., Carruthers, C. et al.
Immunological escape mechanism in spontaneously metastizing mammary tumors
Proc. Nat. Acad. Sci. 72, 1012-1016, 1975

70) Klein, E., Sjögren, H.D.
Humoral and cellular factors in homograft and isograft immunity against sarcoma cells
Cancer Res. 20, 452-561, 1960

71) Köhler, G., Milstein, C.
Continous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specifity
Nature 256, 495-497, 1975

72) Koldovsky, P.
Canceroembryonic antigens
Springer Verlag, Heidelberg, 1974

73) Koldovsky, P.
Dangers and limitations of the immunological treatment of cancer
Lancet 1, 654-655, 1966

74) Koprowski, H., Steplewski, Z., Herlyn, D. et al.
Study of antibodies against human melanoma produced by somatic cell hybrids
Proc. Natl. Acad. Sci. 75, 3405-3409, 1978

75) Kripke, M.L., Borsos, T.
Immune surveillance revisited
J. Natl. Cancer Inst. 52, 1393-1395, 1974

76) Kristensen, E., Brandslund, I., Nielsen, H.
Prognostic value of assays for circulating immune complexes and natural cytotoxicity in malignant skin melanoma (stages I and II)
Cancer Immunol. Immunother. 9, 31-36. 1980

77) Lengerova, A.
Membrane Antigens
VEB Gustav Fischer Verlag Jena, 1977

78) Leong, S.P.L., Hornung, M.O., Krementz, E.T.
Immunoflourescent studies on chimpanzee humoral responses to human melanoma cells
Oncology 33, 246-249, 1976

79) Leong, S.P.L., Sutherland, C.M., Krementz, E.T.
Changes in destribution of human malignant melanoma membrane antigens in the presence of human antibody by immunoflourescence
Cancer Res. 37, 293-298, 1977

80) Leong, S.P.L., Cooperband, S.R., Deckers, P.J. et al.
Antibody-induced movement of common melanoma membrane antigens on the surface of unfixed human melanoma cells
Cancer Res. 39, 2125-2131, 1979

81) Lewis, M.G., Ikonopisov, R.L., Nairn, R.C. et al.
Tumor-specific antibodies in human malignant melanoma and their relationship to the extent of the disease
Brit. med. J. 3, 547-552, 1969

82) Lewis, M.G., Phillips, T.M., Cook, K.B. et al.
Possible explanation for loss of detectable antibody in patients with disseminated malignant melanoma
Nature 232, 52-53, 1971a

83) Lewis, M.G., Loughridge, L.W., Phillips, T.M.
Immunological studies in nephrotic syndrome associated with extrarenal malignant disease
Lancet 2, 134-135, 1971b

84) Lewis, M.G., Phillips, T.M.
The specifity of surface membrane immunofluorescence in human malignant melanoma
Int. J. Cancer 10, 105-111, 1972a

85) Lewis, M.G.
Circulating humoral antibodies in cancer
Medical Clinics of North America 56, 481-499, 1972b

86) Lewis, M.G., McCloy, E., Blake, J.
The significance of humoral antibod es in the localization of human malignant melanoma
Brit. J. Surg. 60, 443-446, 1973

87) Lewis, M.G., Phillips, T.M., Noble, P.B. et al.
Immune derangement in patients with malignant melanoma
Journal of Cutaneous Pathology 6, 201-207, 1979

88) Liao, S.-K., Leong, P.L., Sutherland, C.M. et al.
Common human melanoma membrane antigens detected by mixed hemadsorption microassay with serum from a patient undergoing immunotherapy with autologous tumor-cells
Cancer Res. 38, 4395-4400, 1978

89) Liao, S.-K., Kwong, P.C., Thompson, J.C. et al.
Spectrum of melanoma antigens on cultured human malignant melanoma cells as detected by monkey antibodies
Cancer Res. 39, 183-192, 1979

90) Macher, E., Müller, Ch., Sorg, G. et al.
Evidence for crossreacting membrane associated specific melanoma antigens as detected by immunofluorescence and immune andherence
Behring Inst. Mitt. 56, 86-90, 1975

91) Macher, E., Sommer, G.
Haut
in: Vorländer, K.-O.
Praxis der Immunologie, 444-474, 1976

92) Mannik, M., Arend, W.P., Hall, A.P. et al.
Studies on antigen-antibody complexes
J. Exp. Med. 133, 731-739, 1971

93) Masson, P.L.
Zirkulierende Antigen-Antikörper-Komplexe
Laboratoriumsblätter 3, 89-106, 1978

94) Mastrangello, M.J., Bellet, R.E., Berd, D.
Immunology and Immunotherapy
in: Human malignant melanoma
Clark, W.H., Goldman, L.I.,
Mastrangello, M.J.
New York Grune & Stratton, 1979

95) McCabe, R.P., Quaranta, V., Frugis, L. et al.
A radioimmunometric antibody-binding
assay for evaluation of xenoantisera
to melanoma-associated antigens
J. Natl. Cancer Inst. 62, 455-463, 1979

96) McKhann, C.F., Jagarlamoody, S.M.
Evidence for immune reactivity against
neoplasms
Transplant. Rev. 7, 55-77, 1971

97) McKhann, C.F., Hendrikson, Ch.G., Spittler, L.E. et al.
Immunotherapy of melanoma with BCG:
Two fatalities following intralesional
injection
Cancer 35, 514-520, 1975

98) Metzgar, R.S., Bergoc, P.M., Moreno, M.A. et al.
Melanoma-Specific antibodies produced in
monkey by immunization with human melanoma
cell lines
J. Natl. Cancer Inst. 50, 1065-1068, 1973

99) Miller, J.F.A.P.
Cellular interactions in immune responses
Seminars in Hematology 16, 283-292, 1979

100) Minden, P., Sharpton, T.R., McClatchy, J.K.
Shared antigens between human malignant melanoma cells and mycrobacterium bovis (BCG)
J. Immunol. 116, 1407-1414, 1976

101) Morton, D.L., Malmgren, R.A., Homes, E.C. et al.
Demonstration of antibodies against human malignant melanoma demonstrated by immuno-fluorescence
Surgery 64, 233-240, 1968

102) Mukherji, B., Vasses, D., Flowers, A. et al.
Selective and non-selective lymphocyto-toxicity in human melanoma: observation on the effect of long-term culture and fetal bovine serum on target-cell sensitivity to lymphocytes
Int. J. Cancer 16, 971-980, 1975

103) Murray, E., McCarthy, W.H., Hersey, P.
Blocking factors against leucocyte-dependent melanoma antibody in the sera of melanoma patients
Br. J. Cancer 36, 7-14, 1977

104) Nagel, G.A., Piessens, W.F., Stilmant, M.M. et al.
Evidence for tumor-specific immunity in human malignant melanoma
Europ. J. Cancer 7, 41-47, 1971

105) Nairn, R.C., Cucdin, C.H., McKaughtan, J.
Partial mechanization of membrane immuno-fluorescence staining
Clin. Exp. Immunol. 8, 835-838, 1971

106) Nairn, R.C.
Malignant melanoma
in : Fry, L., Seah, P.P.
Immunological aspects of skin diseases
Medicaland technical publishing Co., Lancaster, England 153-194, 1974

107) Natali, P.G., Imai, K., Wilson, B.S. et al.
Structural properties and tissue distribution of the antigen recognized by the monoclonal antibody 653.40S to human melanoma cells
J. Natl. Cancer Inst. 67, 591-601, 1981

108) Nathanson, L.
Immunotherapy of melanoma
J. Cutan. Path. 6, 213-226,1979

109) Ninnemann, J.L.
Melanom-associated immunosuppression through B cell activation of suppressor T cells
J. Immunol. 120, 1573-1579, 1978

110) Nydegger, U.E., Davis, J.S.
Soluble immune complexes in human disease
CRC Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences 82, 123-170, 1980

111) Opferkuch, W., Schmidt, U.
Komplementsystem
in: Vorländer K.-O.
Praxis der Immunologie 15-58,
Thieme Verlag, 1976

112) Olson, J.L., Phillips, T.M., Lewis, M.G. et al.
Malignant melanoma with renal dense deposits containing tumor antigens
Clin. Nephrol. 12, 74-82, 1979

113) Prehn, R.T., Main, J.M.
Immunity to methyl-cholantrene induced sarcomas
J. Natl. Cancer Inst. 18, 769-776, 1957

114) Prehn, R.T., Lappé, M.A.
An immunostimulation theory of tumor development
Transplant. Rev. 7, 25-54, 1971

115) Prehn, R.T.
Immunostimulation of the lymphodependent phase of neoplastic growth
J. Natl. Cancer Inst. 59, 1043-1049, 1977

116) Rao, V.S., Bonavida, B.
Specific enhancement of tumor growth and depression of cell mediated immunity following sensitization to soluble tumor antigens
Cancer Res. 36, 1384-1391, 1976

117) Resch, K.
Zelluläre Immunreaktionen
in: Vorländer, K.-O.
Praxis der Immunologie, 59-71
Thieme Verlag 1976

118) Rocho, S.D., McIntire, K.B., Ng, A.K. et al.
Sensitive and convenient quantitation of antibody binding to cellular antigens using glutardehyde reserved cells
J. Imm. Methods 26, 369-380, 1979

119) Rossen, R.D., Reisberg, M.A., Hersh, E.M. et al.
The C1q binding test for soluble immune complexes:
Clinical correlations obtained in patients with cancer
J. Natl. Cancer Inst. 58, 1205-1215, 1977

120) Rowley, D.A., Fitch, F.W., Stuart, F.P. et al.
Specific suppression of immune responses
Science 181, 1133-1141, 1973

121) Seibert, E., Sorg, C., Happle, R. et al.
Membrane associated antigens of human malignant melanoma.
III. Specifity of human sera reacting with cultured melanoma cells
Int. J. Cancer 19, 172-178, 1977

122) Sell, S.
Immunologie, Immunpathologie und Immunität
Verlag Chemie, Weinheim, New York 1977

123) Shiku, H., Takahashi, T., Oettgen, H.F. et al.
Cell surface antigens of human malignant melanoma
J. Exp. Med. 144, 873-882, 1976

124) Sjögren, H.O., Hellström, I., Bansal, S.C. et al.
Suggestive evidence that the "blocking antibodies" of tumor-bearing individuals may be antigen-antibody complexes
Proc. Nat. Acad. Sci. 68, 1372-1375, 1971

125) Sjögren, H.O., Hellström, I., Bansal, S.C. et al.
Elution of "blocking factors" from human tumors, capable of abrogating tumor-cell destruction by specifically immune lymphocytes
Int. J. Cancer 9, 274-283, 1972

126) Sorg, C., Brüggen, J., Seibert, E. et al.
Membrane-associated antigens of human malignant melanoma IV: Changes in expression of antigens on cultured melanoma cells
Cancer Immunol. Immunother. 3, 259-271, 1978

127) Steele, G., Soonis, S., Stelos, P. et al.
Cisculating immune complexes in patients following clinically curative resection of colorectal cancer
Surgery 83, 648-654, 1978

128) Steplewski, Z., Herlyn, M., Herlyn, D. et al.
Reactivity of monoclonal anti-melanoma antibodies with melanoma cells isolated from primary and metastatic melanoma
Eur. J. Immunol. 9, 94-95, 1979

129) Sumner, W.C.
Spontaneous regression of melanoma report of a case
Cancer 6, 1040-1043, 1953

130) The, T.H., Huiges, H.A., Schraffordt Koops, H. et al.
Surface antigens on cultured malignant melanoma cells as detected by a membrane immunofluorescence method with human sera. Lack of tumor-specific reactions on melanoma lines
Ann. N.Y. Acad. Sci. 254, 528-540, 1975

131) Theofilopoulos, A.N., Wilson, C.B., Dixon, F.J.
The Raji cell radioimmune assay for detecting immune complexes in human sera
J. Clin. Invest. 57, 169-182, 1976

132) Theofilopoulos, A.N., Anrews, B.S., Urist, M.M. et al.
The nature of immune complexes in human cancer sera
J. Immunol. 119, 657-663, 1977

133) Theofilopoulos, A.N., Dixon, F.J.
The biology and detection of immune complexes
Adv. Immunol. 28, 89-189, 1979

134) Theofilopoulos, A.N., Dixon, F.J.
Detection of immune complexes: techniques and implications
Hospital Practice 15, 107-121, 1980a

135) Theofilopoulos, A.N.
Evaluation and clinical significance of circulating immune complexes
Prog. Clin. Immunol. 4, 63-106, 1980b

136) Thompson, P.G.
Relationship of lymphocytic infiltration to prognosis in primary malignant melanoma of skin
Pigment Cell 1, 285-291, 1973

137) Underwood, J.C.E.
Lymphoreticular infiltration in human tumors:
Prognostic and biological implications: a review
Br. J. Cancer 30, 538-548, 1974

138) Vaage, J.
Concomitant immunity and specific depression of immunity by residual or reinjected syngeneic tumor tissue
Cancer Res. 32, 1655-1662, 1971

139) Vaage, J.
Circulating tumor antigens versus immune serum factors in depressed concomitant immunity
Cancer Res. 34, 2979-2983, 1974

140) van der Esch, E.P.
Cutaneous melanoma
Studies based on registry data
Amsterdam 1981

141) Woodbury, R.G., Brown, J.P., Ming-Yang-Yeh et al.
Identification of a cell surface protein, p97, in human melanomas and certain other neoplasms
Proc. Natl. Acad. Sci. 77, 2183-2187, 1980

142) Woodruff, M.F.A.
Immunological aspects of cancer
Lancet 2, 265-270, 1964

143) Wybran, J., Fudenberg, H.H.
Thymus-derived rosette forming cells in various human disease states: cancer, lymphoma, bacterial and viral infections and other diseases
J. Clin. Invest. 52, 1026-1032, 1973

144) Yeh, M.J., Hellström, I., Brown, J.P. et al.
Cell surface antigens of human melanoma identified by monoclonal antibody
Proc. Natl. Acad. Sci. 76, 2927-2931,1979

Herrn Prof. Dr. med. H.-W. Schlipköter danke ich für die Überlassung des Themas und für die Förderung der vorliegenden Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. P. Koldovsky, der mit unterstützendem fachlichen Rat bei der Durchführung dieser Arbeit geholfen hat.

Für die Überlassung der Blutproben der Melanompatienten danke ich Herrn Prof. Dr. med. G. Goerz, für die der Kontrollgruppe Herrn Dr. med. R. Dolgner.

Frau Dipl. Biol. B. Molik danke ich für ihre Hilfe bei der statistischen Auswertung.

Lebenslauf

Am 21. März 1954 wurde ich, Eva Cermakova, als Tochter des Arztes Dr. Vlastimil Cermak und dessen Ehefrau Dr. Helena Cermakova, geborene Medlenova, in Aussig an der Elbe (Tschechoslowakei) geboren.

Die Grundschule besuchte ich von 1960 - 1967 in der Tschechoslowakei, danach wegen Tätigkeit meines Vaters im Rahmen der Entwicklungshilfe von 1967 - 1969 das französische Gymnasium in Tiaret (Algerien).

Im Jahre 1969 ersuchten meine Eltern um politisches Asyl in der Bundesrepublik Deutschland. Daraufhin besuchte ich Gymnasien in Wildbad, Bochum und Düsseldorf, wo ich am Clara Schumann Gymnasium 1974 das Abitur bestand.

Im Wintersemester 1974/75 nahm ich an der Universität Düsseldorf das Medizinstudium auf; 1976 absolvierte ich die ärztliche Vorprüfung, 1978 den ersten, 1980 den zweiten und nach Abschluß des "Praktischen Jahres" am 5. Mai 1981 den dritten Teil der Ärztlichen Prüfung.

Im Jahre 1977 erhielt ich die deutsche Staatsangehörigkeit.

Seit der Approbation als Arzt am 7. Juni 1981, bin ich als Mitarbeiterin bei mehreren niedergelassenen Ärzten tätig.

Düsseldorf, den 20.4.1983